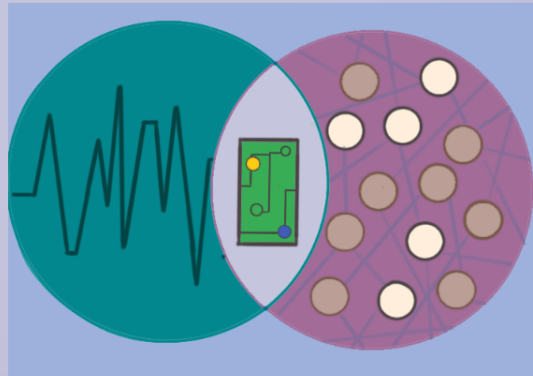


Im-Patch



**Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Fisiología Celular**

**Dr. Jesús E. Pérez Ortega
Karla M. González Carreón**

Im-Patch 2016

Programa Im-Patch

Indice

Chapter:

1. Introducción al software Im-Patch
2. Electroanalysis
3. Imagenología de calc
4. Simultaneo
5. Settings
6. Especificaciones generales de hardware
7. Ejemplos

Manual Im-Patch

La intención del manual es acercar al usuario de una forma más sencilla y detallada al programa Im-Patch, en donde a lo largo del texto se introducirán imágenes para tener una mejor visualización y así aprovechar de una forma más eficiente el programa.

Chapter 1. Introducción del software

En esta sección se pretende introducir al usuario al programa Im-Patch de manera general para que se vaya familiarizando con cada una de las secciones que Im-Patch posee.

Sistema operativo

El sistema operativo para el cual el software Im-Patch ha sido diseñado es para Windows XP para la versión de LABVIEW 8.3. La versión de Windows soporta para versiones más recientes tales como el Windows 7, Windows 8 y el Windows 10.

La versión de LABVIEW puede realizar la conversión de una más actualizada a la 8.3, sin embargo es importante que no se utilice en versiones más viejas que la mencionada anteriormente.

Programa Im-Patch

El programa Im-Patch esta dividido en varias secciones las cuales serán explicadas cada una de sus partes nombrando cada botón, su nombre y una breve descripción de su funcionamiento.

Im-Patch es un software el cual, de manera general podemos decir que se divide en dos secciones: a) Configuración y Guardado de datos (parte Izquierda) y b) Control (parte derecha). De cada una de estas secciones se tienen más divisiones.

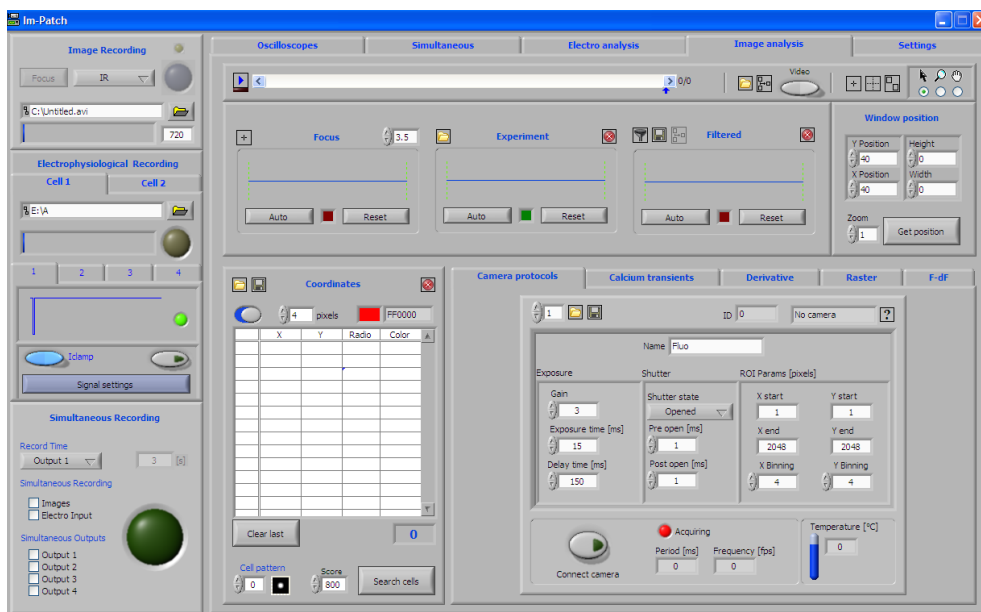


Figura 1. Imagen del programa Im-Patch general

Se tienen dos secciones principales en la sección a de configuración y guardado de datos, en donde se pueden hacer varios ajustes además de configurar en donde se va a guardar el proyecto.

a) Configuración y Guardado de datos (parte izquierda)

Como se puede apreciar, la parte de configuración y guardado de datos posee varias secciones las cuales son importantes para la administración de los datos que se estén analizando, para el almacenamiento de datos, configuración de la señal e incluso indicar el tipo de proceso que se va a realizar. Básicamente lo que se hace es controlar una parte del software para poder fusionar el uso del programa con el experimento que se desea realizar.

A continuación se explicará de manera detallada cada una de las secciones con el fin de que el usuario pueda desarrollar de la mejor manera el programa.

En general se tienen tres secciones:

- Image Recording
- Electrophysiological Recording
- Simultaneous Recording

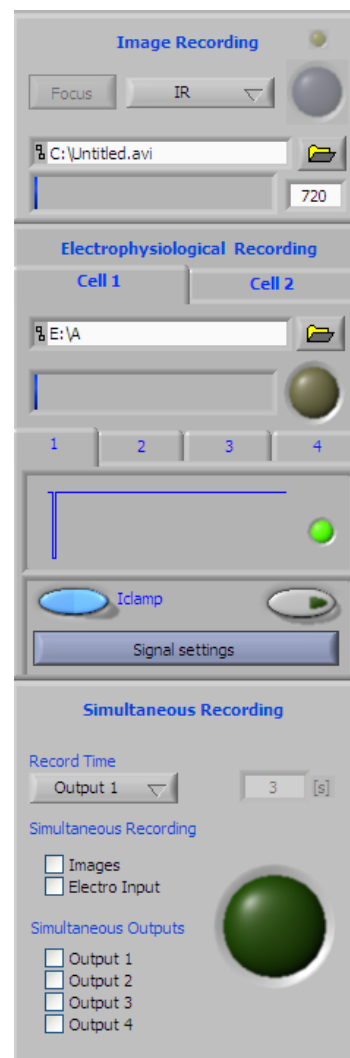


Figura2. Sección a de configuración y guardado de datos

Breve síntesis

De forma breve se explicará de manera general que realiza cada una de las secciones de configuración y guardado de datos.
Esta sección nos ayuda a facilitar el uso del software una vez que el usuario ya esta trabajando y sólo desea ir controlando pequeños detalles.

Image Recording

Esta primera sección esta dirigida principalmente a la implementación del método de Imagenología de Calcio debido a que el principal componente para su uso es una cámara.

Como se puede ver en la figura la sección cuenta con varias partes. Se puede seleccionar el tipo de protocolo que se desea y se puede seleccionar una carpeta para ir guardando los datos. Al oprimir el botón gris se inicia el proceso de guardado de datos. Como se mencionó esta sección en realidad es una vía rápida para poder operar el método de Imagenología de Calcio, sin embargo todas las especificaciones se realizan en la sección b de control en la ventana Settings.

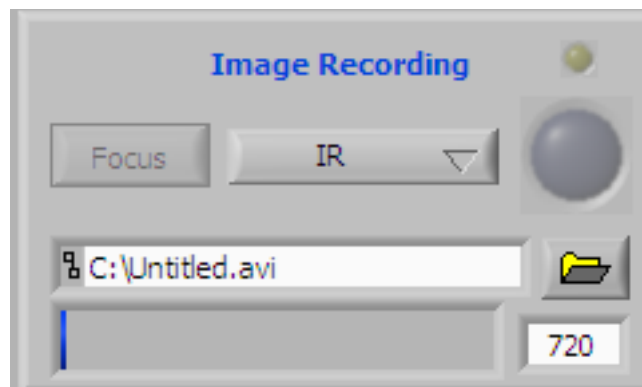


Figura3. Image recording

Se puede desplegar una lista el cual tiene predeterminado todas las funciones necesarios para realizar un cierto tipo de protocolo especializado en el método de Imagenología de Calcio. Se tiene de manera determinada dos funciones:

- IR
- Fluo

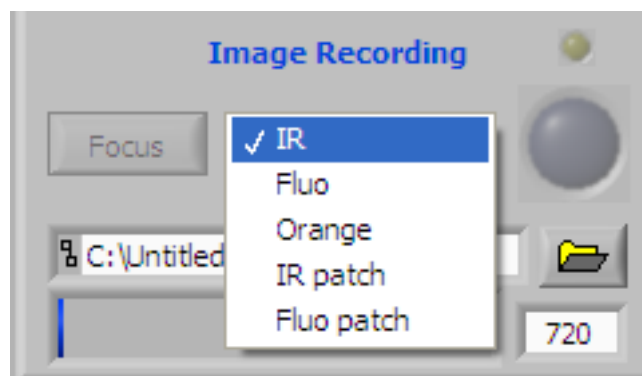


Figura4. Lista desplegada de las opciones

En la figura se tiene la lista desplegada con todas las opciones que se pueden realizar por medio del usuario. En la lista se ven varias opciones debido a que cada usuario puede configurar un tipo de protocolo especial para que puede desarrollarlo e implementarlo en el uso de su experimento.

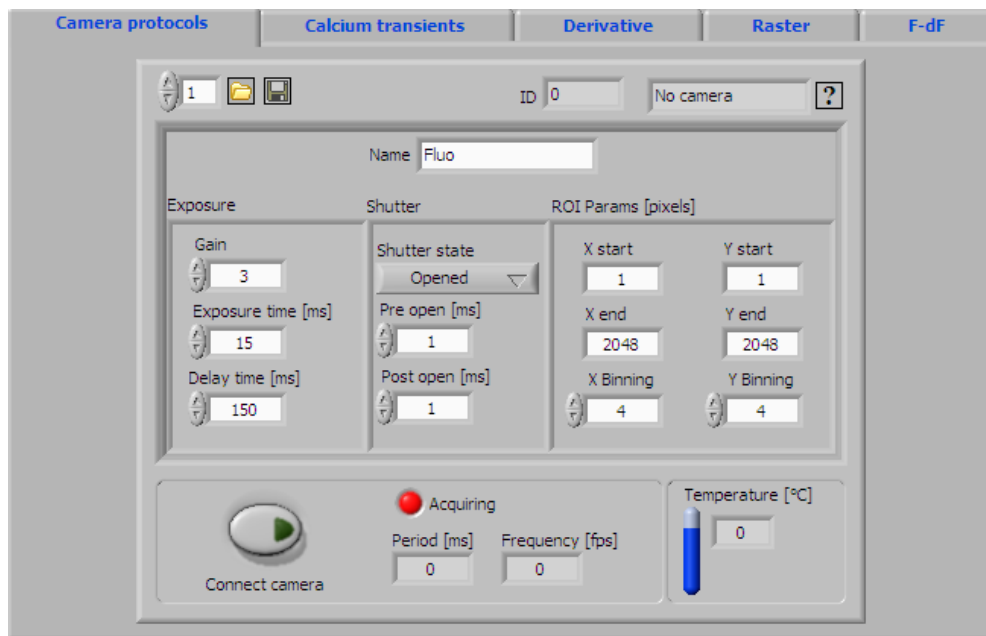


Figura 5. Camara protocolo

A continuación se va a mostrar una parte de la sección b, la ventana de Settings la cual será explicada posteriormente de manera más detallada.

La figura muestra una parte en la que tal y como se ve tiene una sección llamada Camera Protocols en la cual es la designada para configurar especificaciones particulares para la realización del experimento en Imagenología de Calcio. Como se ha venido mencionado dado que la cámara es parte fundamental del proceso, esta sección justo lo que hace es configurar todo las características de la cámara.

De manera detallada será explicado en su correspondiente sección sin embargo se puede decir de manera general que todas las configuraciones dependen del tipo de Cámara con el que se este trabajando. De manera predeterminada se tienen algunos tipos de cámaras cargados mas si se tiene otro tipo en el Chapter. Explicaciones de Hardware se va a detallar.

El punto importante a mencionar es que el usuario puede configurar todas las características especiales y puede ponerle un nombre. Al guardarlo va aparecer en la sección de Image Recording en la lista que anteriormente se explicó, para que en futuras ocasiones simplemente se seleccione facilitando el proceso de experimentación.

Electrophysiological Recording

Esta sección particularmente sirve para efectuar el método de Electrofisiología. Se encuentran varios módulos para operar dentro de está sección tal como se ve en la figura.



Figura 6. Electrophysiological Recording

De primera instancia se pueden analizar dos células a la vez para el proceso de electrofisiología (como se puede ver en la parte posterior Cell 1, Cell 2). El software está equipado para que puedas realizar cambios a cada una teniendo la facilidad de analizarlas ambas por separado pero al mismo tiempo.

Se tiene la opción de indicar en donde se va a guardar o seleccionar un archivo de tus documentos. Cuando se está guardando el archivo es cuando el botón verde está encendido.

Otro módulo es para seleccionar y establecer el tipo de señal que deseas utilizar en tu experimento. Se cuentan con 4 casillas diferentes, debido a que se pueden efectuar 4 diferentes señales a la vez durante el desarrollo del experimento. Cabe señalar que esto depende de la tarjeta convertidora Analógico-Digital, tal como se especificó previamente en la Chapter. Especificaciones de Hardware.

El módulo posee un pequeño indicador de gráfica el cual te muestra cuál es la señal que se está efectuando en ese momento y en esa casilla. Debido a que el proceso de realización de electrofisiología está basado en el método de Patch-Clamp todo el software está orientado a la facilidad de realizarlo. Por tal motivo se cuenta con un botón IClamp/Vclamp que será el que indicará la variable la cual se va a fijar, para mejor detalle se explicará en el Chapter. Electrofisiología.

De manera general cada una de las casillas previamente descritas poseen una barra de Settings en donde contiene el tipo de señales que se pueden configurar.

Las diferentes señales que se pueden seleccionar son:

- Square
- Ramp
- Triangle
- Steps
- Steps +-
- Data
- Train

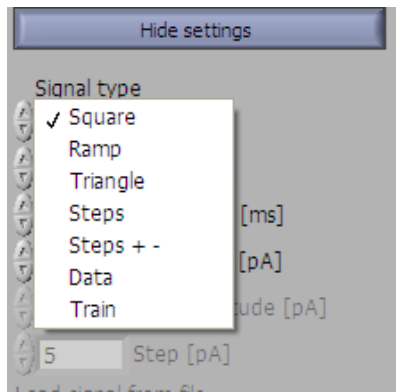


Figura 7. Listado de signal type

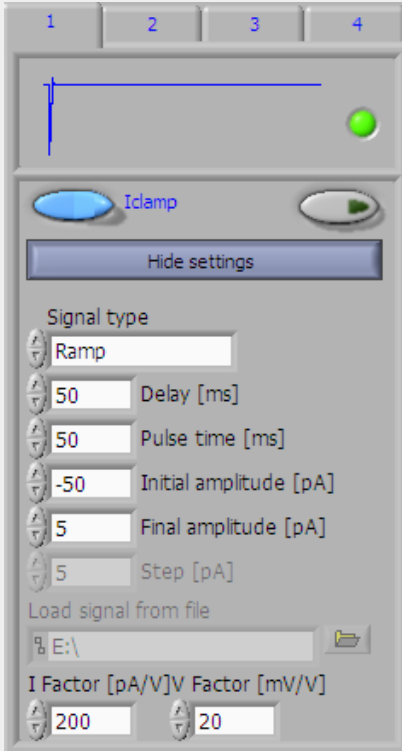
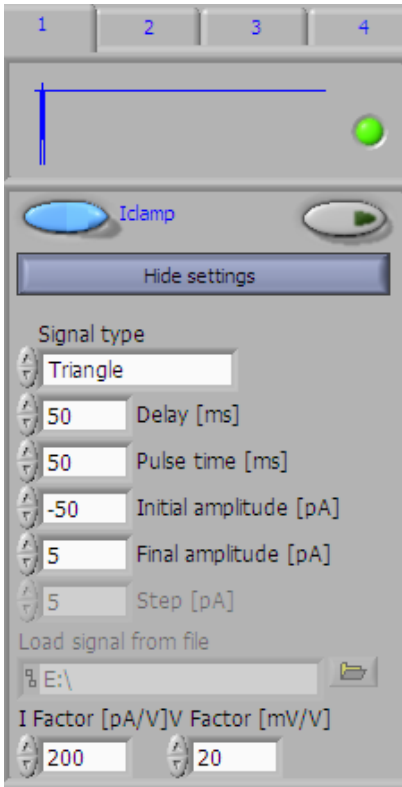
En la figura, se puede visualizar el listado de las diferentes tipos de señales que maneja el programa.

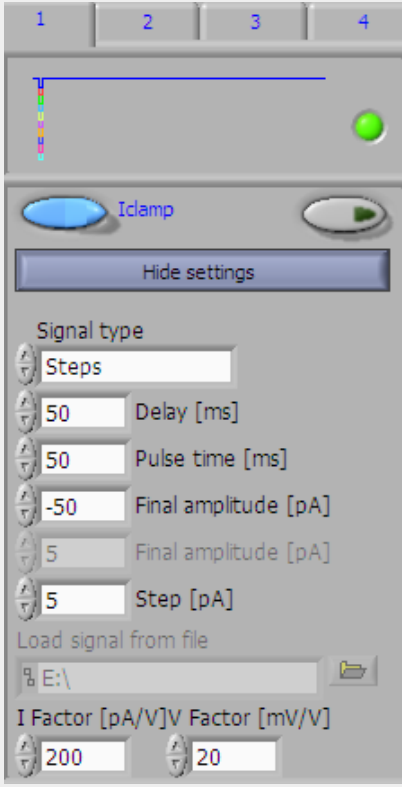
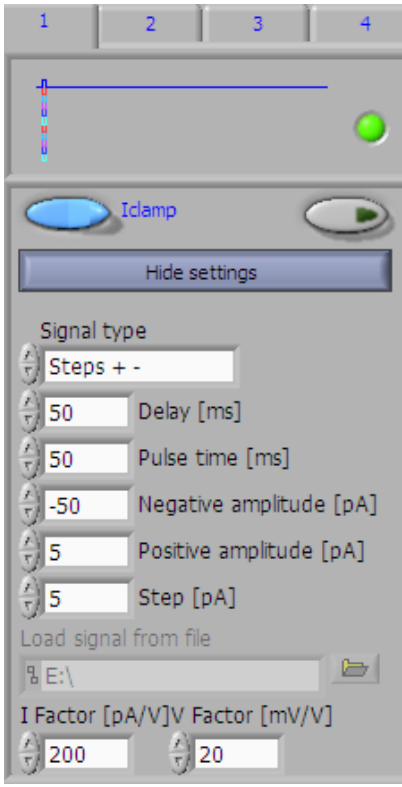
Cada una de las señales configuradas se tienen diferentes tipos de parámetros los cuales pueden ser modificados para tener la señal deseada.

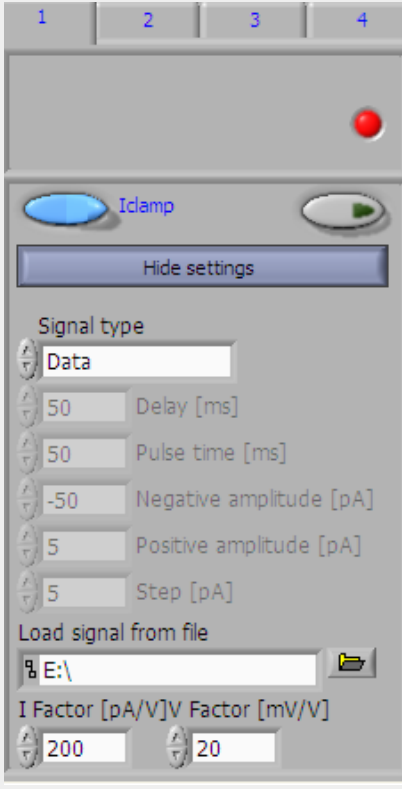
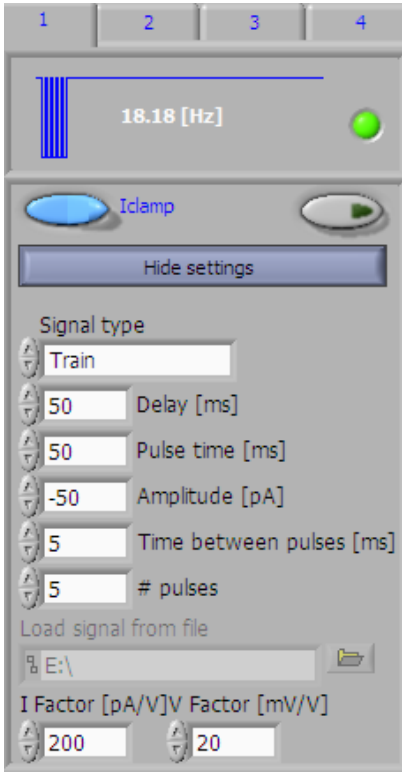
Se mostrarán los parámetros que tiene cada una de las señales con la finalidad de que el usuario pueda obtener el mejor resultado posible.

A continuación se mostrará una tabla en donde se explicará la configuración para cada una de las señales con sus respectivos parámetros, donde se pretende explicar de una forma general el tipo de señal y los parámetros para poder modificar la señal. Para mejor información vaya al Chapter. Explicaciones de ingeniería.

Tipo de señal	Configuración en Im-Patch	Explicación
Square		<p>Para la señal cuadrada, “Square”, los parámetros necesarios para su modificaciones es</p> <p>Delay: Indica el tiempo que va a tardar en iniciar cada señal cuadrada [ms]. Pulse time: Indica el tiempo que va a durar el pulso en mili segundos [ms]. Amplitud: Es el tamaño de la señal cuadrada. Si se tiene la configuración de Iclamp será en [pA] y si es Vclamp es [mV]. Las demás configuraciones son para seleccionar un tipo de archivo con configuraciones previamente hechas y el factor de escalamiento para el osciloscopio de la corriente y del voltaje de la señal medida.</p>

Tipo de señal	Configuración en Im-Patch	Explicación
Ramp	 <p>The screenshot shows the 'Im-Patch' configuration window. At the top, there are four tabs labeled 1, 2, 3, and 4. Below the tabs is a graph area with a blue line representing a ramp signal. A green light indicator is visible on the right side of the graph. Below the graph, there is a blue oval labeled 'Iclamp' and a 'Hide settings' button. The 'Signal type' dropdown menu is set to 'Ramp'. Below this, several parameters are listed with up/down arrows and input fields: Delay [ms] (50), Pulse time [ms] (50), Initial amplitude [pA] (-50), Final amplitude [pA] (5), and Step [pA] (5). At the bottom, there is a 'Load signal from file' section with a file path field containing '% E:\' and a folder icon. Below that, 'I Factor [pA/V]' is set to 200 and 'V Factor [mV/V]' is set to 20.</p>	<p>Para la señal tipo rampa, “Ramp”, los parámetros necesarios son: Delay: Indica el tiempo que va a tardar en iniciar cada señal cuadrada [ms]. Pulse time: Indica el tiempo que va a durar el pulso en mili segundos [ms]. Debido a que es una rampa se debe especificar, dependiendo del tipo de fijación que se realizó Vclamp/Iclamp, la amplitud inicial y final para tener la señal con la rampa que se desea.</p>
Triangle	 <p>The screenshot shows the 'Im-Patch' configuration window. At the top, there are four tabs labeled 1, 2, 3, and 4. Below the tabs is a graph area with a blue line representing a triangle signal. A green light indicator is visible on the right side of the graph. Below the graph, there is a blue oval labeled 'Iclamp' and a 'Hide settings' button. The 'Signal type' dropdown menu is set to 'Triangle'. Below this, several parameters are listed with up/down arrows and input fields: Delay [ms] (50), Pulse time [ms] (50), Initial amplitude [pA] (-50), Final amplitude [pA] (5), and Step [pA] (5). At the bottom, there is a 'Load signal from file' section with a file path field containing '% E:\' and a folder icon. Below that, 'I Factor [pA/V]' is set to 200 and 'V Factor [mV/V]' is set to 20.</p>	<p>La señal tipo triángulo es muy similar a la señal Rampa.</p>

Tipo de señal	Configuración en Im-Patch	Explicación
Steps		<p>Para la señal step se tiene: Delay: Indica el tiempo que va a tardar en iniciar cada señal cuadrada [ms]. Pulse time: Indica el tiempo que va a durar el pulso en mili segundos [ms]. Una de las formas de analizar las neuronas es ir dosificando el impulso poco a poco hasta llegar a una cierta amplitud. En este tipo de señal se pretende realizar esta operación de manera automática, sin la necesidad de que el usuario lo cambie manualmente. En Final amplitud: se indica a que amplitud final se desea llegar (dependiendo de la fijación de voltaje o corriente) Step: Es el escalonamiento que va a ir aumentando o disminuyendo (dependiendo del signo que se coloque) hasta llegar a la amplitud final previamente estipulada.</p>
Steps +-		<p>Este tipo de señal Step +- es muy similar a la señal anterior, sin embargo esta tiene la posibilidad de ir aumentando y disminuyendo a lo largo del tiempo de muestreo. Por tal motivo el Negative amplitud y el Positive amplitud: son los valores finales que se desean para cada una de las señales. El Step: es el escalonamiento que se va a ir disminuyendo o aumentando (dependiendo del tipo de señal que se tenga). Cabe señalar que si se tiene un valor de amplitud menor con respecto a la otra señal, la señal con menor amplitud va a llegar al valor máximo en el que se programo, hasta que llegue al valor de la amplitud final de la señal con mayor amplitud establecido conservando el valor máximo de la amplitud de menor señal.</p>

Tipo de señal	Configuración en Im-Patch	Explicación
Data	 <p>The screenshot shows the 'Data' configuration window in Im-Patch. At the top, there are four numbered tabs (1, 2, 3, 4) and a red indicator light. Below is a blue 'Iclamp' button and a green indicator light. A 'Hide settings' button is present. The 'Signal type' dropdown is set to 'Data'. Parameters include: Delay [ms] (50), Pulse time [ms] (50), Negative amplitude [pA] (-50), Positive amplitude [pA] (5), and Step [pA] (5). There is a 'Load signal from file' field with a file explorer icon and the path 'E:\'. At the bottom, 'I Factor [pA/V]' is set to 200 and 'V Factor [mV/V]' is set to 20.</p>	<p>Este tipo de señal es para precargarla de un archivo previamente realizado. Particularmente este tipo de señal es aplicado a una técnica particular del método Patch Clamp llamada Dynamic clamp. El único parámetro que se tiene es seleccionar el archivo que se tiene dentro de una carpeta.</p>
Train	 <p>The screenshot shows the 'Train' configuration window in Im-Patch. At the top, there are four numbered tabs (1, 2, 3, 4) and a green indicator light. Below is a blue 'Iclamp' button and a green indicator light. A 'Hide settings' button is present. The 'Signal type' dropdown is set to 'Train'. Parameters include: Delay [ms] (50), Pulse time [ms] (50), Amplitude [pA] (-50), Time between pulses [ms] (5), and # pulses (5). There is a 'Load signal from file' field with a file explorer icon and the path 'E:\'. At the bottom, 'I Factor [pA/V]' is set to 200 and 'V Factor [mV/V]' is set to 20.</p>	<p>El tipo de señal de tren es aplicar un conjunto de señales cuadradas programados en un lapso de tiempo. Delay: Es el tiempo que va a durar la aplicación de la señal en total [ms]. Pulse time: Indica el tiempo que va a durar el pulso en mili segundos [ms]. Amplitud: Tienes que definir la amplitud de la señal que cuadrada que se desea tener. Time between pulses [ms]: Indica el tiempo que va a tardar en iniciar cada señal cuadrada [ms]. # pulses: Definir cuantos pulsos se desean aplicar en el lapso definido.</p>

Por último se cuenta con un botón para apagar y prender la señal que se esta dando por medio del electrodo para tener un mejor control del experimento.

Simultaneous Recording

Una de las principales beneficios que tiene el programa Im-Patch es que el usuario puede implementar llevar acabo los dos procesos Electrofisiología e Imagenología de Calcio a la vez.

Esta sección esta desarrollada con la finalidad de realizar de manera simultánea el método de Electrofisiología e Imagenología facilitando el proceso de poder hacer ambos métodos a la vez. En la figura se puede apreciar como es que se ve la interfaz gráfica del programa Im-Patch.

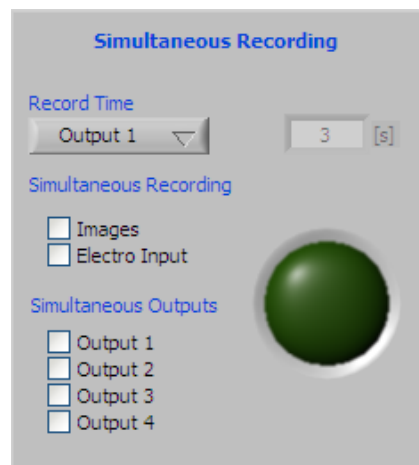


Figura 8. Simultaneous Recording

Cuenta con 3 módulos:

- Record Time

En esta sección lo que se lleva a cabo es la configuración para poder realizar el grabado del proceso.

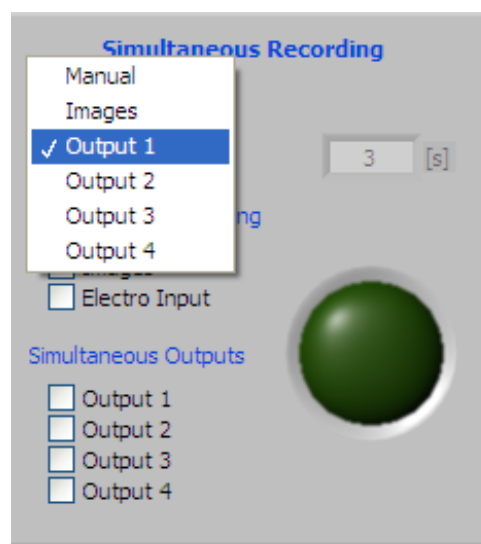


Figura 9. Listado de opciones para el módulo record time

Se tienen 6 opciones diferentes dentro de la lista de este módulo son:

- Manual

Para realizar de manera manual la realización del método.

- Images
 - Output 1
- Seleccionar la salida 1
- Output 2
 - Output 3
 - Output 4

- Simultaneous Recording

Para indicar cual es el proceso que se esta realizando: electrofisiología, imagenología o ambas. Para poder indicarlo simplemente se selecciona el cuadrado de la opción que se desea

- Simultaneous Outputs

Indicas cuales son las salidas que estas utilizando. Esta configuración es por medio de hardware, son las salidas que están siendo usadas de la tarjeta encargada de convertir señales Analógico-Digital.

Botones sección a Configuración y guardado de datos

Para esta sección se va a presentar cada uno de los botones que cuenta la sección a) Configuración y guardado de datos para mayor claridad.

El programa cuenta con pestañas que te explica de manera muy breve lo que hace cada una de los botones.

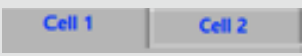
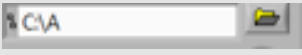
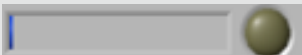

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Cell1 / Cell 2	Se puede trabajar con dos diferentes células (neuronas)	
		Guarda el archivo con el nombre y el lugar que se coloque en la sección blanco. El folder te despliega los documentos en tu PC.	
		Te muestra el nombre del documento. La bolita amarillo sirve como botón para guardar el proceso, en el recuadro de la izquierda muestra el evento y los segundos que tardo, lo guardo en el archivo que se seleccionó con el nombre que se tiene en el cuadro blanco de la primera sección.	

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	1 / 2 / 3 / 4	Despliega diferentes funciones con respecto a las gráficas que se van a obtener	Muestra diferentes gráficas dependiendo del número colocado. * Anexo

Para la sección de 1/2/3/4 la cual despliega más opciones a continuación se mostrara cada una de las opciones y botones que se muestran para cada sección.

Pestaña 1


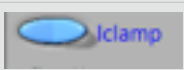

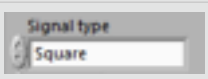
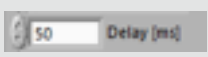
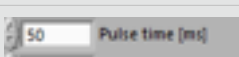

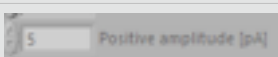
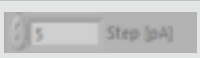
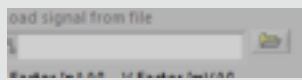
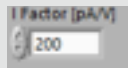
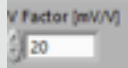
Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Muestra el tipo de señal que será mandada por algunas de las Cell.	*El led indica que esta listo y no tiene problemas. Si se torna rojo es porque hay un error en la configuración.
	Iclamp/ Vclamp		
	Turn on/ off the output signal	Sirve para controlar el encendido y el apagado de la señal de salida	Si no esta conectada la tarjeta despliega un error. *
	Signal type	El usuario puede indicar el tipo de señal de salida. Por default se encuentra square.	Tiene 7 opciones: Square Ramp Triangle Steps Steps +- Data Train
	Delay [ms]	Es para indicar cuanto tiempo quieres que dure la señal de salida.	
	Pulse time [ms]	La duración del pulso (da voltaje o corriente dependiendo de los seleccionado en Iclamp/ Vclamp)	
	Amplitud de la señal [pA]	La amplitud de la señal de corriente	
	Positive amplitude [pA]		No siempre esta disponible
	Step [pA]		No siempre esta disponible

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Load signal from file	Añades un tipo de señal de un archivo guardado, oprimiendo el folder puedes acceder a los documentos o bien añadiendo el nombre en el espacio blanco	No siempre esta disponible
	I Factor [pA/V]	Colocar la cantidad de corriente que se desea en OUTPUT	
	VFactor[mV/V]	Colocar la cantidad de voltaje que se desea en OUTPUT	

Pestaña 2

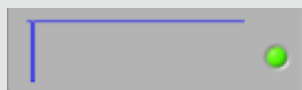


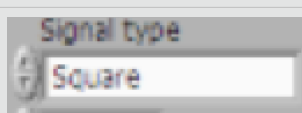
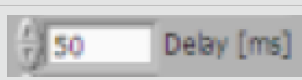
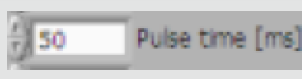
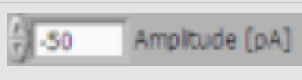
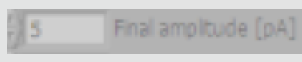
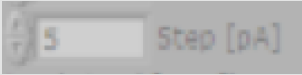
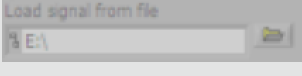

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Muestra el tipo de señal que será mandada por algunas de las Cell.	*El led indica que esta listo y no tiene problemas. Si se torna rojo es porque hay un error en la configuración.
	Iclamp/ Vclamp		
	Turn on/ off the output signal	Sirve para controlar el encendido y el apagado de la señal de salida	Si no esta conectada la tarjeta despliega un error. *
	Signal type	El usuario puede indicar el tipo de señal de salida. Por default se encuentra square.	Tiene 7 opciones: Square Ramp Triangle Steps Steps +- Data Train
	Delay [ms]	Es para indicar cuanto tiempo quieres que dure la señal de salida.	
	Pulse time [ms]	La duración del pulso (da voltaje o corriente dependiendo de los seleccionado en Iclamp/ Vclamp)	
	Amplitud de la señal [pA]	La amplitud de la señal de corriente	
	Final amplitud [pA]		

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Step [pA]	El tamaño del escalón de la señal que se desea colocar.	
	Load signal from file	Añades un tipo de señal de un archivo guardado, oprimiendo el folder puedes acceder a los documentos o bien añadiendo el nombre en el espacio blanco	
	I factor [pA/V] V factor [mV/V]	Colocar la cantidad de corriente/voltaje que se desea en OUTPUT	

Pestaña 3

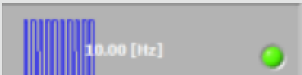


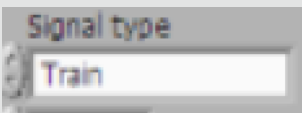
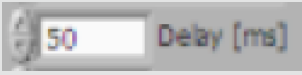
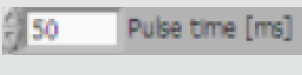
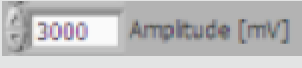
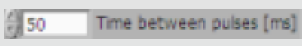
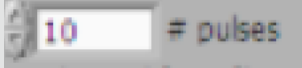
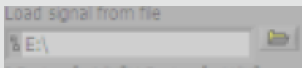

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Muestra el tipo de señal que será mandada por algunas de las Cell.	*El led indica que esta listo y no tiene problemas. Si se torna rojo es porque hay un error en la configuración.
	Iclamp/ Vclamp		
	Turn on/ off the output signal	Sirve para controlar el encendido y el apagado de la señal de salida	Si no esta conectada la tarjeta despliega un error. *
	Signal type	El usuario puede indicar el tipo de señal de salida. Por default se encuentra square.	Tiene 7 opciones: Square Ramp Triangle Steps Steps +- Data Train
	Delay [ms]	Es para indicar cuanto tiempo quieres que dure la señal de salida.	
	Pulse time [ms]	La duración del pulso (da voltaje o corriente dependiendo de los seleccionado en Iclamp/ Vclamp)	
	Amplitud de la señal [mV]	La amplitud de la señal de corriente	

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Time between pulses [ms]	Estableces el tiempo que quieres que dure la pausa entre el tren de pulsos.	
	# pulses	La cantidad de pulsos que deseas hacer.	
	Load signal from file	Añades un tipo de señal de un archivo guardado, oprimiendo el folder puedes acceder a los documentos o bien añadiendo el nombre en el espacio blanco	
	I factor [pA/V] V factor [mv/V]	Colocar la cantidad de corriente/voltaje que se desea en OUTPUT	

Pestaña 4

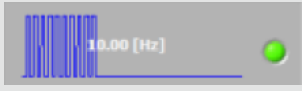


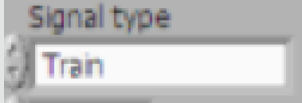
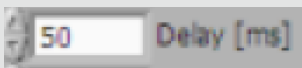
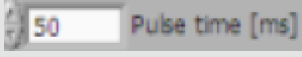
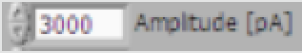
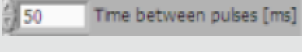

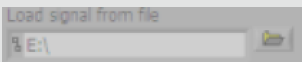
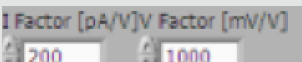
Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Muestra el tipo de señal que será mandada por algunas de las Cell.	*El led indica que esta listo y no tiene problemas. Si se torna rojo es porque hay un error en la configuración.
	Iclamp/ Vclamp		
	Turn on/ off the output signal	Sirve para controlar el encendido y el apagado de la señal de salida	Si no esta conectada la tarjeta despliega un error. *
	Signal type	El usuario puede indicar el tipo de señal de salida. Por default se encuentra square.	Tiene 7 opciones: Square Ramp Triangle Steps Steps +- Data Train
	Delay [ms]	Es para indicar cuanto tiempo quieres que dure la señal de salida.	
	Pulse time [ms]	La duración del pulso (da voltaje o corriente dependiendo de los seleccionado en Iclamp/ Vclamp)	

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Amplitud de la señal [pA]	La amplitud de la señal de corriente	
	Time between pulses [ms]	Estableces el tiempo que quieres que dure la pausa entre el tren de pulsos.	
	# pulses	La cantidad de pulsos que deseas hacer.	
	I factor [pA/V] V factor [mv/V]	Añades un tipo de señal de un archivo guardado, oprimiendo el folder puedes acceder a los documentos o bien añadiendo el nombre en el espacio blanco	
	I factor [pA/V] V factor [mv/V]	Colocar la cantidad de corriente/voltaje que se desea en OUTPUT	

b) Control (parte derecha)

Una vez que se ha explicado como es que se pueden guardar los datos, controlar el tipo de señales que se desean realizar e indicar el tipo de método que se va a realizar viene la sección en la cual se pueden adquirir los datos y analizarlos.

De manera general cuenta con 5 módulos:

- Oscilloscopes
- Simultaneous
- Electro analysis
- Image analysis
- Settings

Se explicará de manera breve cada una de las secciones.

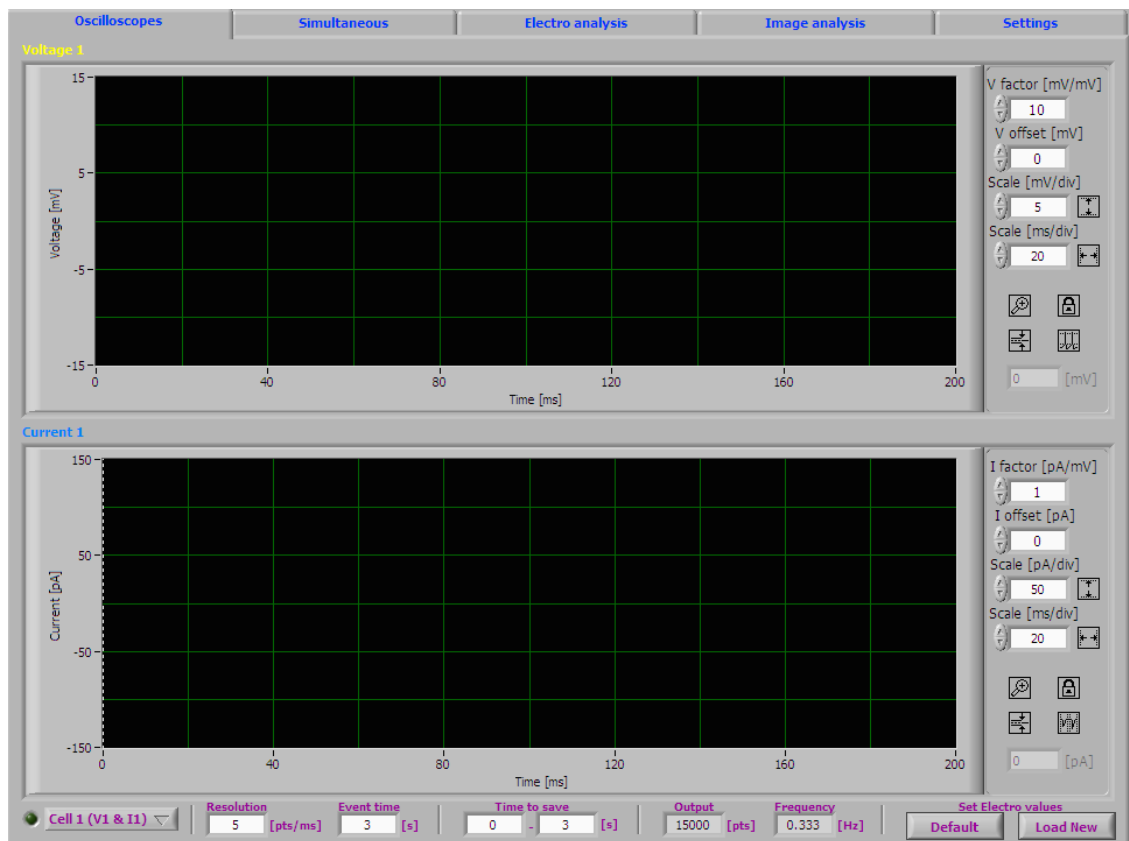
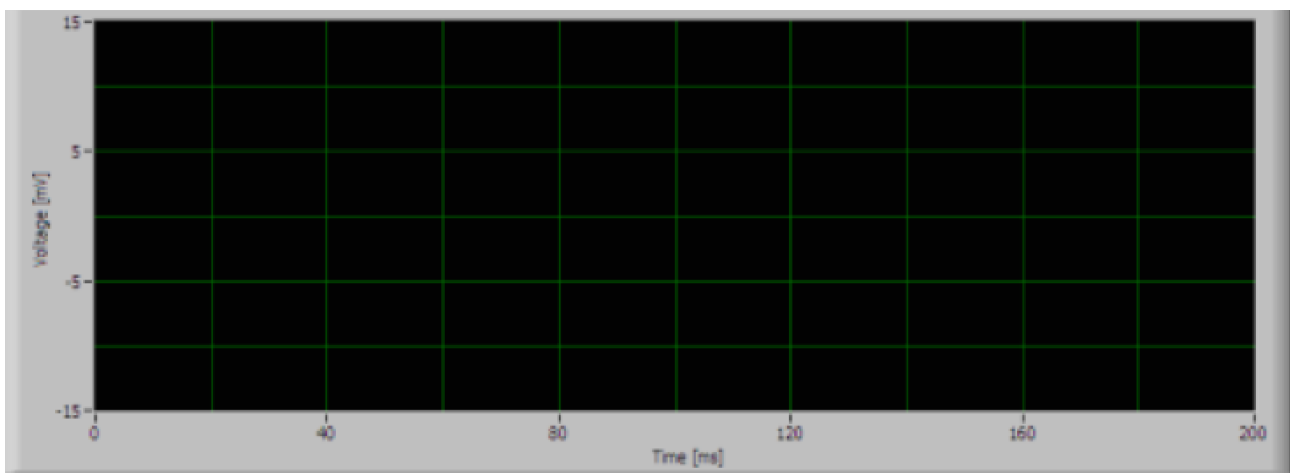


Figura 10 . Se muestran las partes de la sección b

Oscilloscopes

En esta sección se tiene un osciloscopio en donde se muestra la señal en voltaje y en corriente. De manera general es muy utilizado para poder observar como es que se esta comportando la señal tanto la que se puede estar suministrando por medio del electrodo como la que se esta recibiendo de la célula.

Se tiene toda una serie de parámetros que nos permite explorar y desarrollar de una mejor forma el uso de la señal que se esta teniendo.



Botones

En esta sección se presentarán cada uno de los botones y partes que es parte de la sección de osciloscopio para que el usuario le sea más sencillo familiarizarse con esta sección.

Como se mencionó anteriormente la sección de osciloscopio esta dividida en dos partes:

- Voltaje
- Corriente

Voltaje

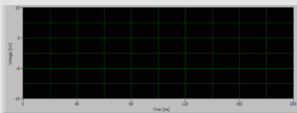
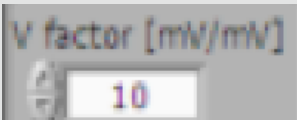
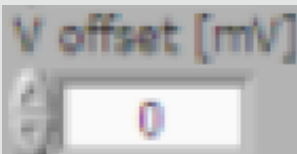
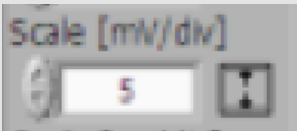






Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Gráfica (Tiempo[ms], Voltaje [mV])	Es una gráfica en la que muestra la señal de Voltaje de las señales que esta midiendo	
	V factor [mV/mV]	Se le indica la cantidad de voltaje del OUTPUT	
	V offset [mV]		
	Scale [mV/div]	La escala de la gráfica en las oblicuas, para tener una mejor resolución.	
	Scale [ms/div]	La escala de la gráfica en las absisas, para tener una mejor resolución	
		4 herramientas para poder facilitar el análisis de la señal adquirida en el osciloscopio.	
		Ayuda a hacer zoom a cualquier posición de la gráfica que selecciones para ver con mejor claridad.	

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Bloquea la señal que se tiene registrada actualmente.	
		Estandariza la señal actual en cero.	
			

Corriente

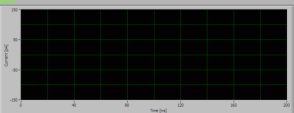
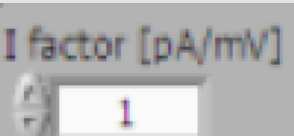
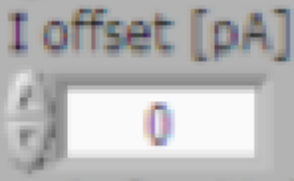
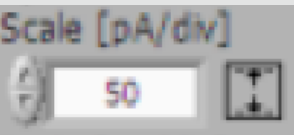
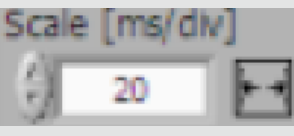



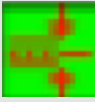
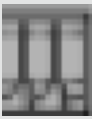
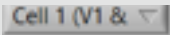
Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Gráfica (Tiempo[ms], Corriente [pA])	Es una gráfica en la que muestra la señal de Corriente de las señales que esta midiendo	
	I factor [pA/mV]	Se le indica la cantidad de corriente del OUTPUT	
	I offsert [pA]		
	Scale [pA/div]	La escala de la gráfica en las oblicuas, para tener una mejor resolución.	
	Scale [ms/div]	La escala de la gráfica en las abscisas, para tener una mejor resolución	
		4 herramientas para poder facilitar el análisis de la señal adquirida en el osciloscopio.	

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Ayuda a hacer zoom a cualquier posición de la gráfica que selecciones para ver con mejor claridad.	
		Bloquea la señal que se tiene registrada actualmente.	
		Estandariza la señal actual en cero.	
			
		Se puede seleccionar cualquiera de las opciones para visualizar las señales que son de interés del usuario.	Se tienen 11 opciones: Cell 1 (V1 & I1) Cell 2 (V2 & I2) Cell 1 & 2 V1 & V2 I1 & I2 V1 & I2 V2 & I1 V1 I1 V2 I2

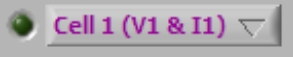

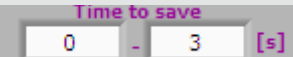
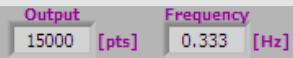

Sección de configuración

Se tiene una sección de configuración en donde se configuran cuestiones técnicas relacionadas a la adquisición de datos de las señales adquiridas. En la siguiente figura se puede observar esta sección:



Figura 11. Sección de configuración del osciloscopio

A continuación se explicará cada una de las partes que lo conforman con una pequeña explicación.

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Cell1	Se puede seleccionar cualquiera de las opciones para visualizar las señales que son de interés del usuario.	Se tienen 11 opciones: Cell 1 (V1 & I1) Cell 2 (V2 & I2) Cell 1 & 2 V1 & V2 I1 & I2 V1 & I2 V2 & I1 V1 I1 V2 I2
	Resolution / Event time	Resolution** Sirve para especificar los puntos que se desean Event time El lapso de tiempo que se desea tener el experimento en total	
	Time to save	El intervalo de tiempo que sea deseado grabar del experimento en total.	Usualmente se tiene un lapso de tiempo en el que la señal se estabiliza por lo que brinda la ayuda de obtener los datos que te brindan mejor información dependiendo del lapso que desees.
	Output / Frecuency	Output: Frecuency: Define la frecuencia a la que va a ir tu señal.	No siempre lo puedes manipular**
	Set electro Values	Se tienen dos botones: default y load new los cuales te brindan la facilidad de cargar valores predeterminados para un cierto tipo de experimento o bien, tú crear tu propia configuración mejorando tu desempeño en tu experimento.	

Settings

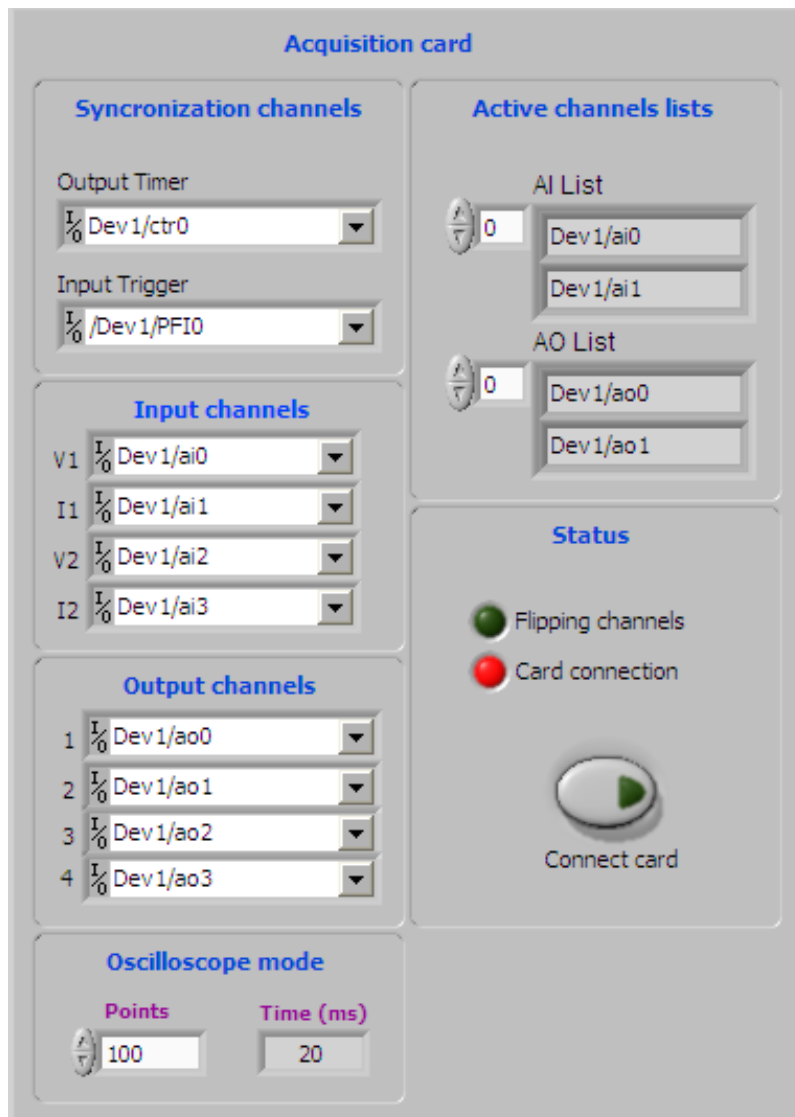


Figura 12. Imagen general de la sección de settings.

Chapter 2. Electrofisiología

En esta sección se va a detallar de forma más explícita la sección que conforma el método de electrofisiología. Debido a su importancia se va a explicar cada una de las partes que lo conforman junto con algunos ejemplos.

Parte teórica de Electrofisiología

Antes de explicar el funcionamiento del programa Im-Patch se va a dar una breve síntesis de que es lo que es y los métodos comúnmente utilizados para facilitar su uso.

La fisiología es la rama de la biología que estudia el funcionamiento de los seres vivos. Dentro de esta rama se encuentra la electrofisiología que estudia el comportamiento de las células por medio de sus propiedades eléctricas.

Im-Patch fue diseñado para analizar de manera particular las células nerviosas llamadas Neuronas.

Como parte del entendimiento del análisis de la electrofisiología a lo largo del tiempo se ha realizado métodos que han ido estandarizando el proceso de análisis de electrofisiología. Uno de los métodos más conocidos se conoce como Patch Clamp.

Patch Clamp

Como parte del entendimiento del análisis de la electrofisiología a lo largo del tiempo se ha realizado métodos que han ido estandarizando el proceso de análisis de electrofisiología. Uno de los métodos más conocidos se conoce como Patch Clamp.

Para entender este método primero es importante saber que una neurona es una célula específica del sistema nervioso, ya sea central o periférico.

La neurona esta conformada por tres principales partes: soma, dendritas y axones. En el cerebro usualmente todas las neuronas se encuentran rodeadas de un líquido extracelular la cual tiene varios elementos importante para las neuronas tales como iones, ATP, etc. La neurona, como toda célula, tiene una capa protectora llamada membrana celular. La membrana esta conformada principalmente por fosfolípidos y sirve como barrera entre el líquido extracelular y el líquido intracelular, además tiene canales por donde pasan diversas sustancias tales como los iones. La neurona por medio de estos canales pueden entrar o salir sustancias y puede liberar potenciales de acción que es una de las formas en las que las neuronas se comunican.

El método patch clamp sirve para ayudar a obtener de manera directa como es que la neurona esta manifestando sus potenciales de acción, ver como abren sus canales entre otras cosas.

De manera general para realizar este método se tiene un electrodo el cual es controlado para fijar ya sea el voltaje o la corriente, que activa a las neuronas para que puedan realizar un potencial de acción y se tiene una pipeta de medidas micrométricas, la cual tiene como función acercarse de tal forma a la membrana para que se pueda obtener directamente de la neurona sus señales eléctricas, a esto se le conoce como gigasello.

Existen diversas formas de aplicar el método de Patch clamp y tiene diferentes funciones algunos de estos son:

- Inside-Out patch
- Whole- cell patch
- Outside-Out patch

Casi todos estos métodos se realizan de la misma forma pero nos permite conocer diferente tipo de información.

El programa Im-Patch nos da la facilidad de realizar de manera óptima el método patch clamp con la finalidad de analizar de la mejor manera posible y obtener datos útiles para el respectivo experimento que se este realizando.

Programa

Una vez que se dio una breve sinopsis de lo que es la electrofisiología y principalmente en donde lo podemos utilizar se va a proceder a explicar de manera detallada cada una de las partes que conforman esta sección del programa Im-Patch.

Tal y como se vio en el Chapter. Introducción del Software la sección de Electrofisiología se encuentra en la sección b: Control

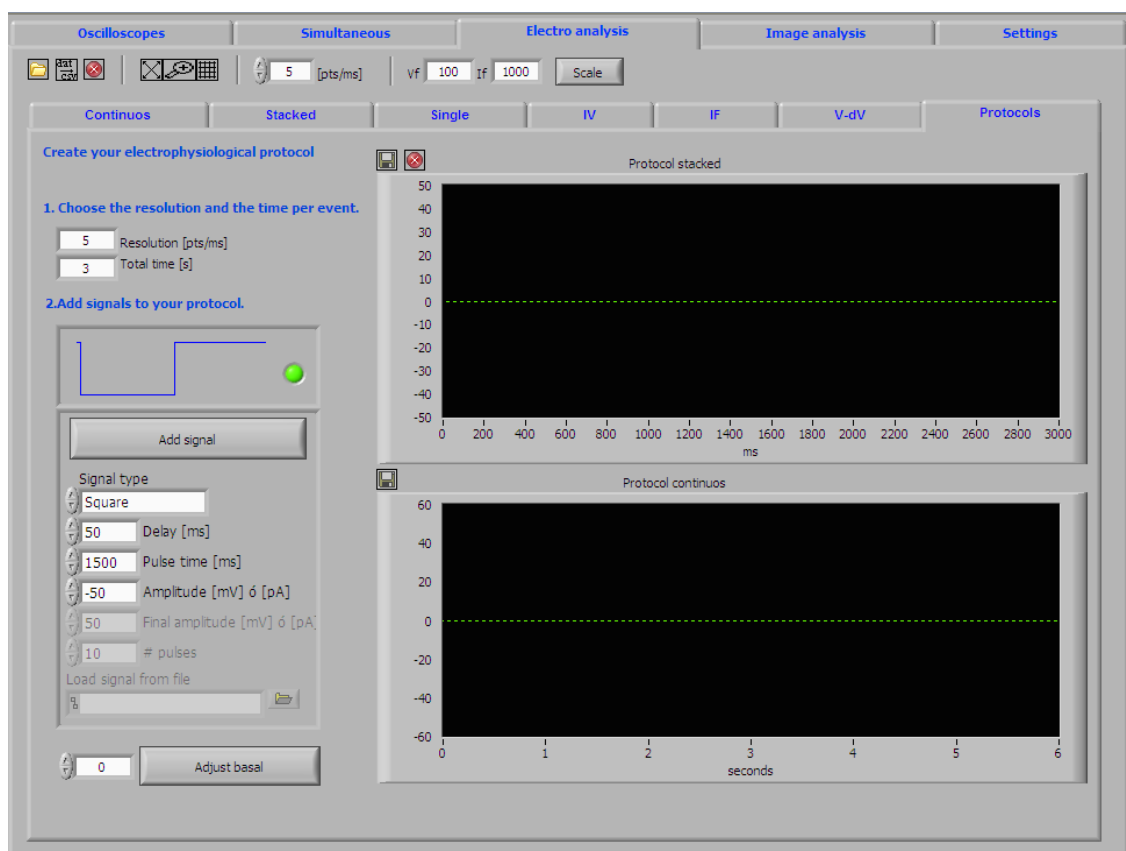


Figura 13. Pantalla general de la sección de Electrofisiología llamada Electro analysis

Como se puede observar en la figura, la sección destinada al análisis de electrofisiología esta conformada por varias partes y cada una es para poder desarrollar una cosa en particular facilitando su análisis y uso.

De manera general se puede decir que se tienen 7 partes las cuales son:

- Continous
- Stacked
- Single
- IV
- IF
- V-dV

- Protocols

Además en la parte superior de todas las 7 partes específicas de la sección de Electro analysis se tiene un menú general para facilitar la adquisición de cierto tipo de parámetros.

A continuación se explicará como funciona, para que funciona y los botones de cada una de las 7 partes anteriormente mencionados.

En general cada una de estas secciones están diseñadas para satisfacer una necesidad particular del método a realizar y facilitar la adquisición de datos.

Parámetros generales

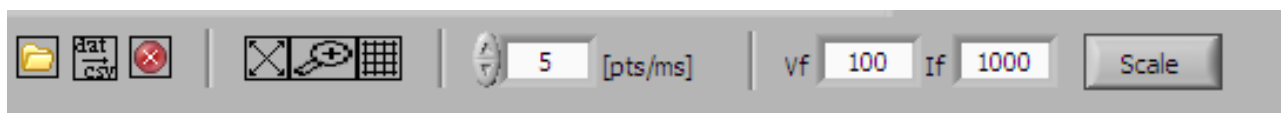
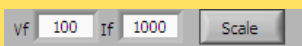


Figura 14. Sección de los parámetros generales que se encuentran en la sección de Electroanalysis

Esta sección en realidad nos brinda ayuda técnica sobre como facilitar el análisis en las gráficas respectivamente. Se puede dividir en 4 secciones diferentes sin embargo para facilitar se explicará cada una de sus partes en la siguiente tabla:

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
		Nos brinda la facilidad de adquirir archivos en los documentos de la computadora.	
	Zoom	Sirve para escoger un área específica de la gráfica a analizar	
	Grid	Le agrega cuadrícula a la gráfica.	Facilita el análisis visual de los datos.
		Define el espacio que va a tener las gráficas con respecto al tiempo.	

Imagen	Nombre	Descripción	Notas
	Vf/ If	Se puede modificar el parámetro referente al voltaje y a la corriente.	Al oprimir el botón Scale realiza las modificaciones apropiadas.

Continous

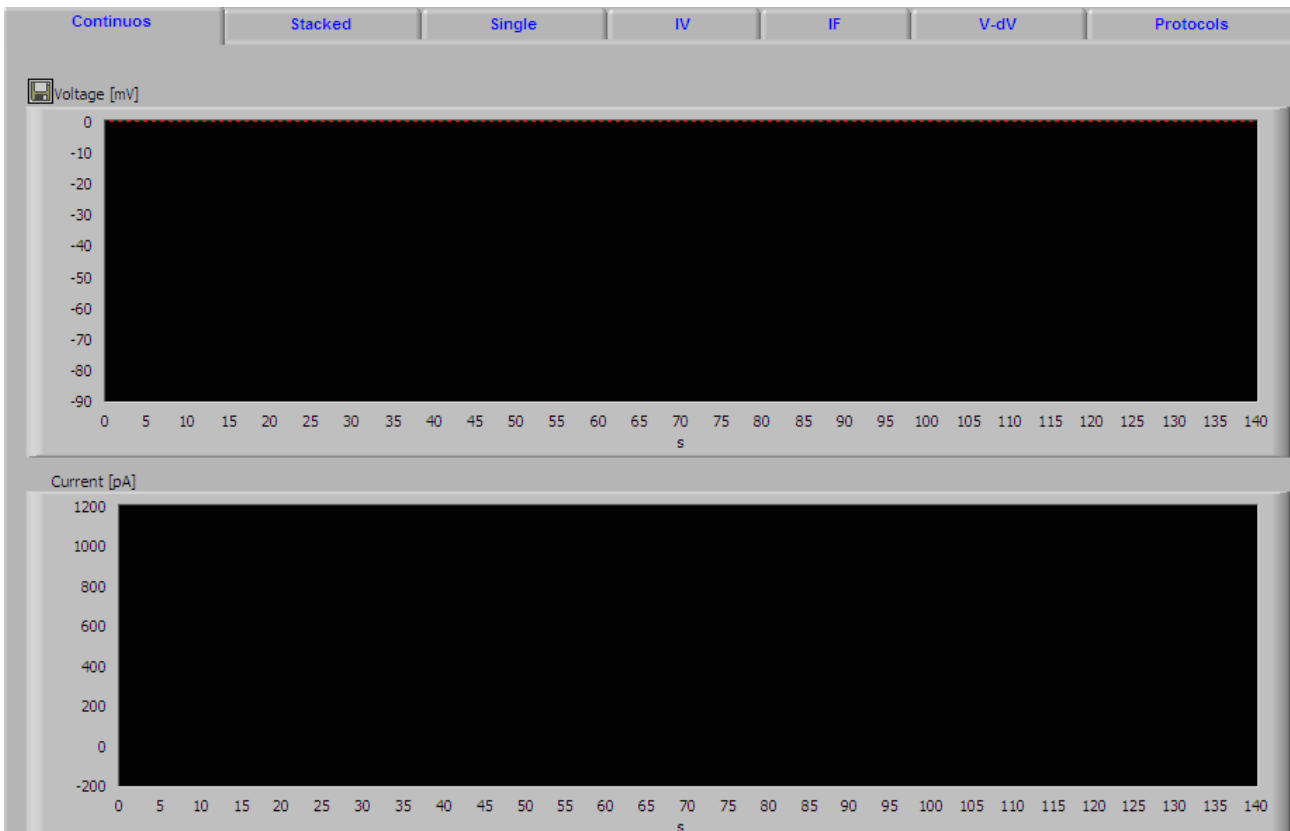


Figura 15. Sección de continous

En esta sección en realidad es muy sencillo lo que se puede hacer, es observar como se esta comportando la señal ya sea de voltaje o de corriente que se esta adquiriendo o que se esta realizando. Como se vio en el Chapter. Introducción del software, se puede observar que en la sección a de configuración se pueden adecuar ciertas características para poder obtener los datos. Todos los datos obtenidos pueden ser guardados en un archivo o bien se puede abrir un archivo de algún experimento previamente realizado y mostrarlo.

Stacked

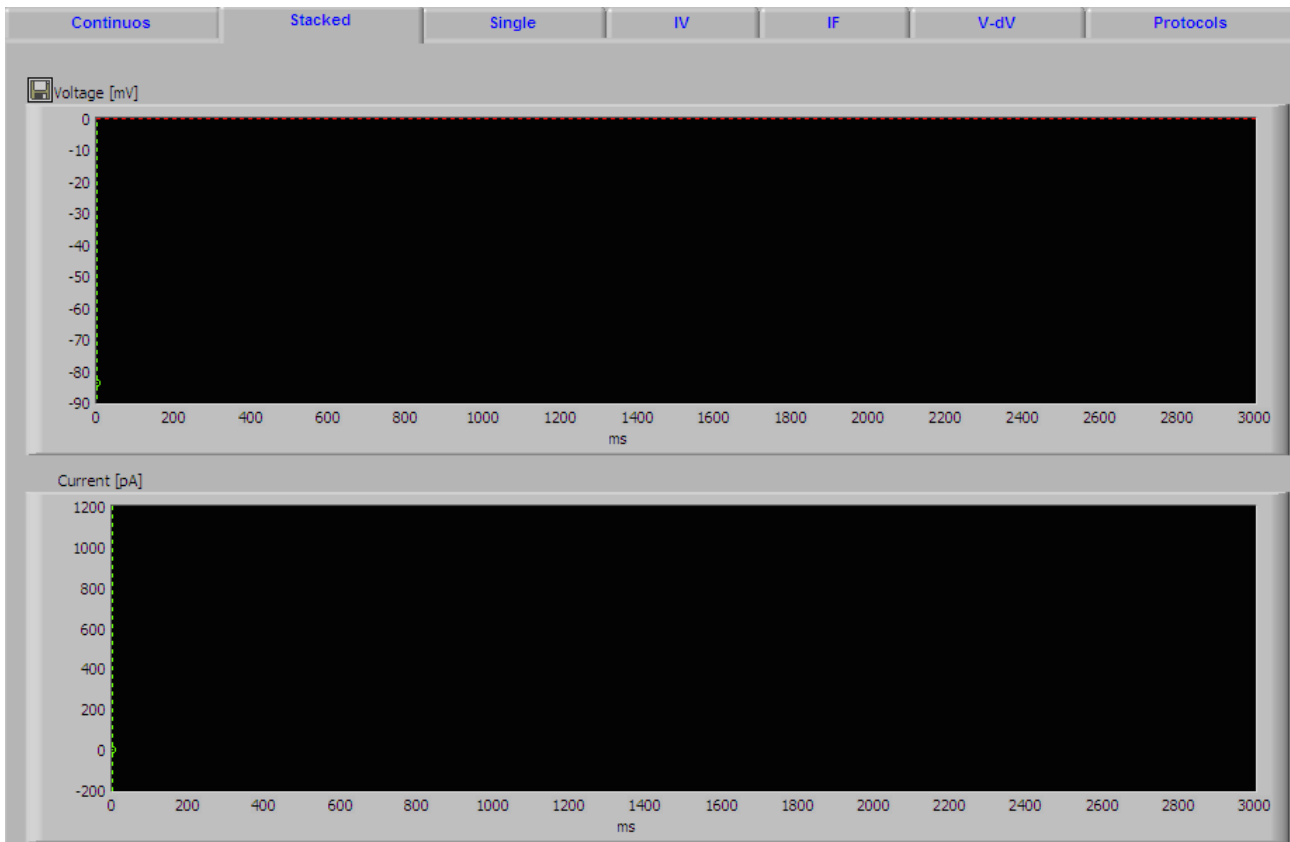


Figura 16. Sección stacked

Single

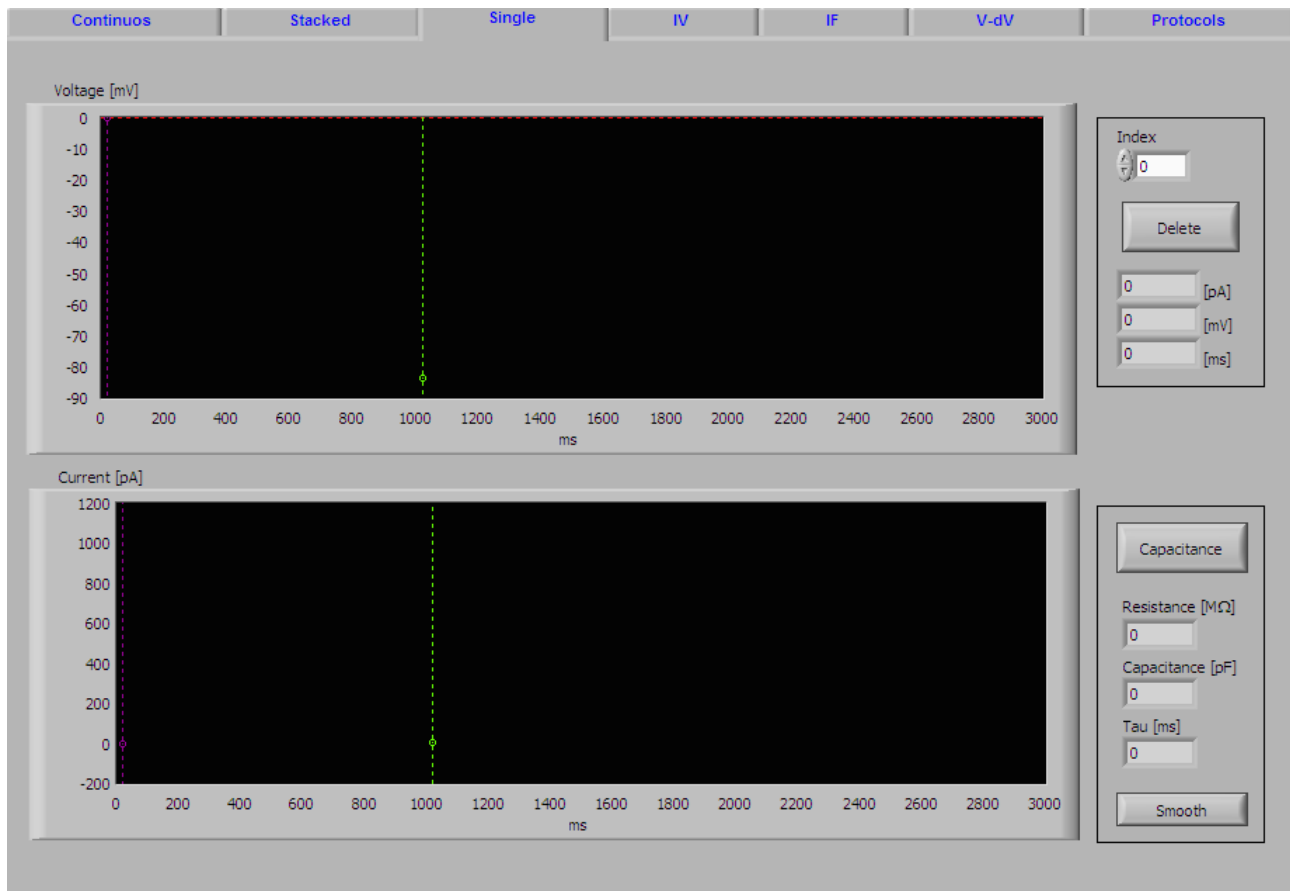


Figura 17. Sección de single

En esta sección se puede configurar ciertas características de los datos que se están adquiriendo dependiendo de que sea voltaje o corriente.

Para el voltaje se tiene un índice el cual al cambiar su valor lo que hace...

Tiene un botón de delete el cual borra la señal y los 3 parámetros son el amperaje, la diferencia de voltaje y el tiempo que se esta adquiriendo y que el programa te mostrará.

Para la corriente se tiene un botón llamado "Capacitance" el cual al ser oprimido realiza...

De igual forma muestras características de la señal que se esta adquiriendo la cual es la Resistencia, la Capacitancia y Tau. Como se ha mencionado anteriormente al realizar el gigasello por medio del protocolo de Patch-Clamp se puede simular esto a una circuito RC el cual la membrana celular se llega a comportar como un capacitor y un resistor en paralelo el cual influye en el tipo de señal que se va adquirir, particularmente la de la corriente. El tau es la una relación la cual congenia el efecto resistivo y capacitivo de la membrana de la neurona que se este analizando. El botón de smooth realiza...

IV

Se tiene una ventana específica en la que se puede obtener la relación de voltaje y corriente o bien voltaje y corriente. Todo depende de la señal que se este fijando, va ser la que se encuentra en el eje de las abscisas dado que es la señal que nosotros estamos controlando.

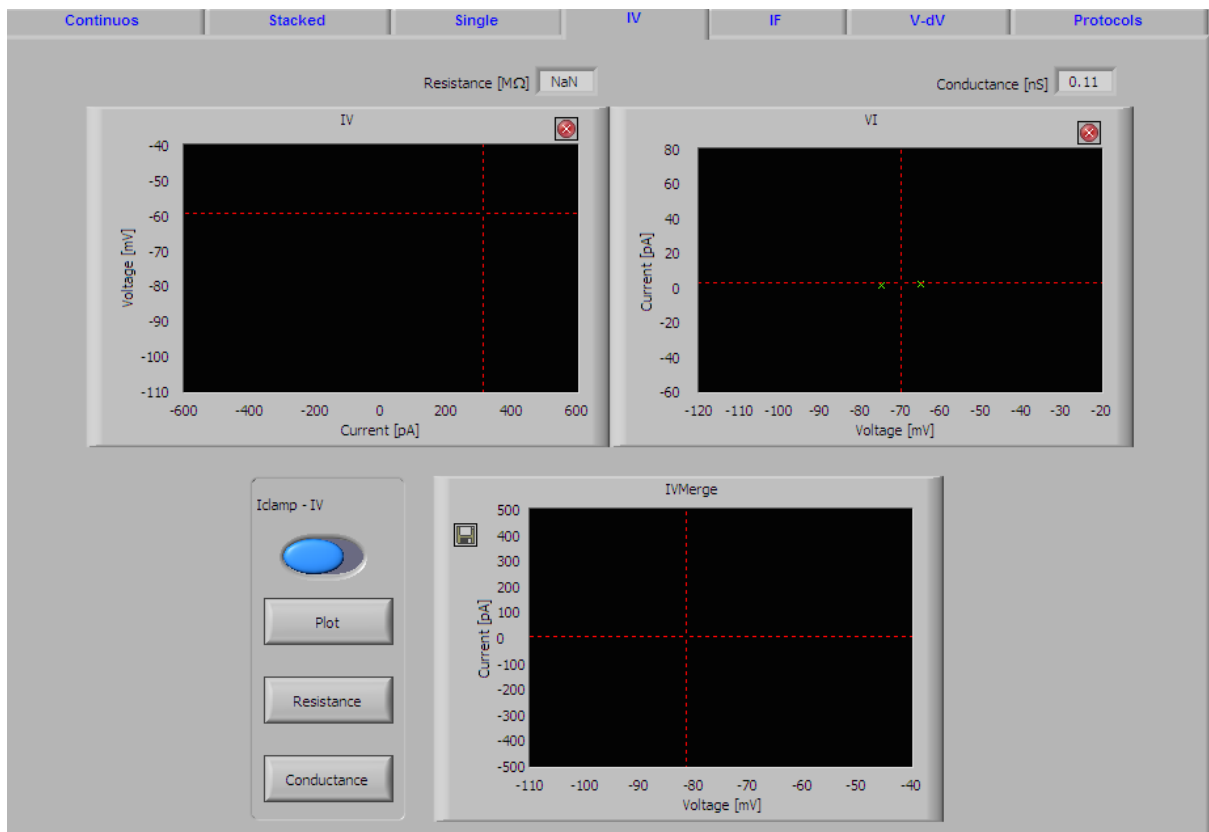


Figura 18. Configuración de IV

Dentro de los métodos a realizar tales como Patch Clamp se tienen protocolos específicos para adquirir cierto tipo de comportamiento y señales, facilitando el proceso de análisis de una señal específica.

Algunos de estos protocolos es el conocido IV, el cual representa el voltaje y la corriente. La variable independiente es justamente aquella la cual nosotros vamos a controlar, en nuestro caso es la señal que fijamos.

En el programa tal y como vemos en la figura. se pueden apreciar 3 diferentes tipos de gráficas. Las cuales son:

- **IV**

Es una gráfica que tal y como dice su nombre es corriente contra voltaje.

En esta parte se puede ver en la parte posterior se puede observar la resistencia "Resistance", esto es debido a que al implementar este tipo de análisis se aplica la Ley de Ohm.

$$V=IR$$

Donde la variable que le da proporción a esta relación es la resistencia.

- **VI**

Es una Gráfica de voltaje contra corriente.

En este caso se puede observar que en la parte posterior de la gráfica se tiene la Conductancia "Conductance", esto es de igual forma por aplicar la ley de Ohm, aunque en esta ocasión es despejando para que la variable dependiente sea la corriente teniendo:

$$I=V/R$$

Sabiendo que: $R=1/C$
entonces: $I=VC$

donde:

- I -> Corriente
- V -> Voltaje
- R -> Resistencia
- C -> Conductancia

En este caso la conductancia es la variable que brinda proporción a la relación entre corriente y voltaje.

- **IVMerge**

- Es una Gráfica de voltaje contra corriente. Además tiene varias configuraciones a realizar esta gráfica.

Tiene tres diferentes botones.

- Plot
- Resistance
- Conductance
- IClamp-IV

Además se puede indicar el valor de la resistencia y la conductancia que se esta adquiriendo de la señal, lo que sería que tanto no fluye y que tanto fluye la corriente.

IF

Se tiene esta ventana de manera particular para el protocolo que relaciona la curva entre corriente y frecuencia.

En este caso particular es necesario controlar o fijar la corriente debido a que es la variable independiente.

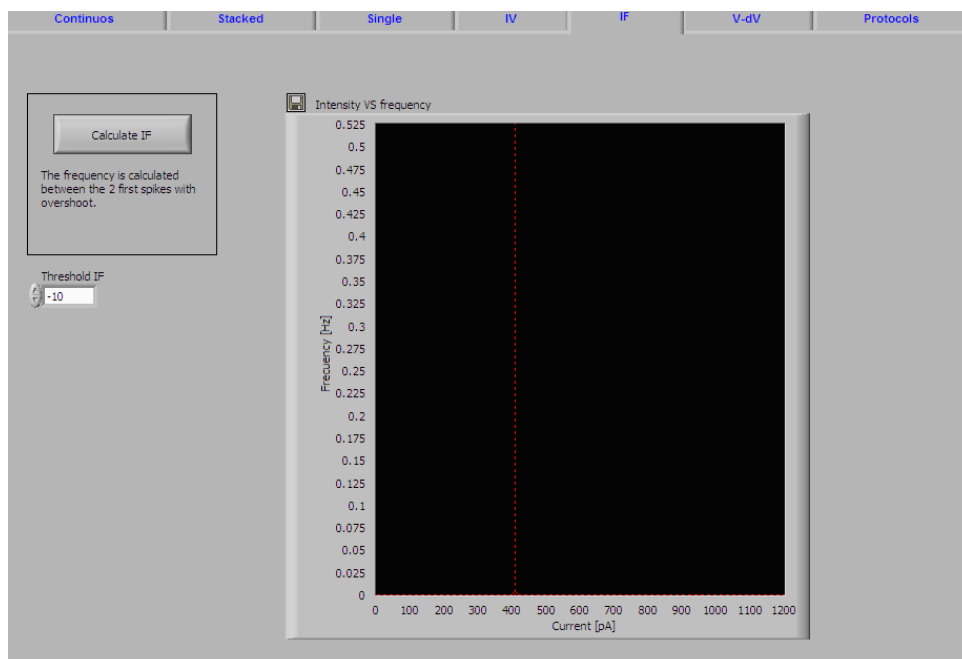


Figura 19. Sección de IF

En esta sección lo que se pretende es comparar la corriente de la señal adquirida con la Frecuencia. De igual forma esta basado en una forma de protocolos que nos permiten en este caso obtener la relación del comportamiento de la señal obtenida con respecto a su oscilación en el dominio de la frecuencia, para así entender de una mejor manera el comportamiento de la señal adquirida.

Se puede observar que se tiene un módulo en donde se puede cambiar el valor de "Threshold IF", esto quiere decir que tú le indicas al programa cuales son los umbrales que deseas que se contabilicen, es decir, a partir del rango que se ingrese es el la frecuencia que va a comprar con la corriente de la señal analizada.

El botón Calculate IF, tal y como indica en su apartado, calcula la frecuencia entre los 2 primeros impulsos de la señal. Entonces al seleccionar la señal que deseas analizar y oprimir el botón el programa Im-Patch lo calcula y te muestra la gráfica.

V-dV

Otros de los protocolos que se implementan para la utilización del método de electrofisiología es V-dV el cual es una gráfica que compara el voltaje de la señal contra su derivada o su cambio a lo largo del tiempo.

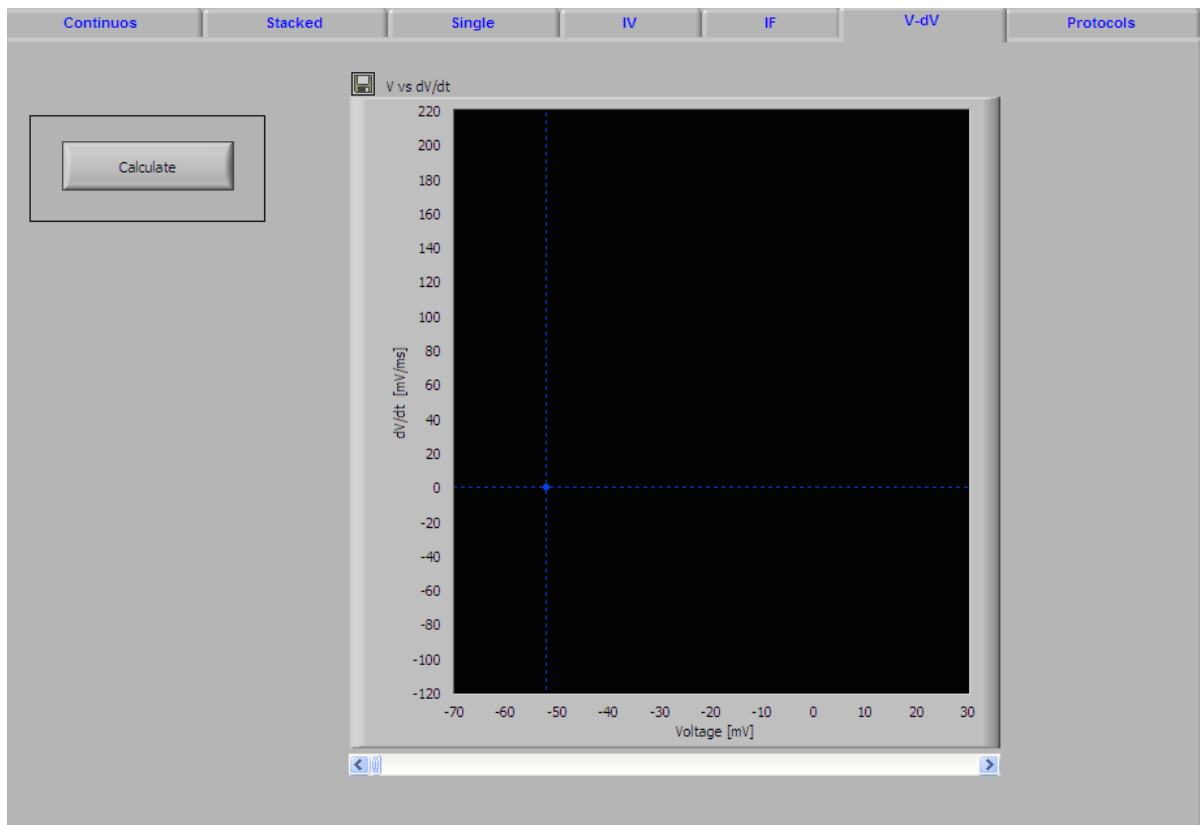


Figura 20. Visualización de V-dV

Su realización es muy simple, en realidad sólo es necesario cargar la señal la cual se desea analizar (la parte de voltaje) y oprimir el botón de Calculate, el programa Im-Patch mostrará la señal calculada correspondiente. A continuación se muestra en la figura, la forma en como normalmente la señal obtenida se visualiza.

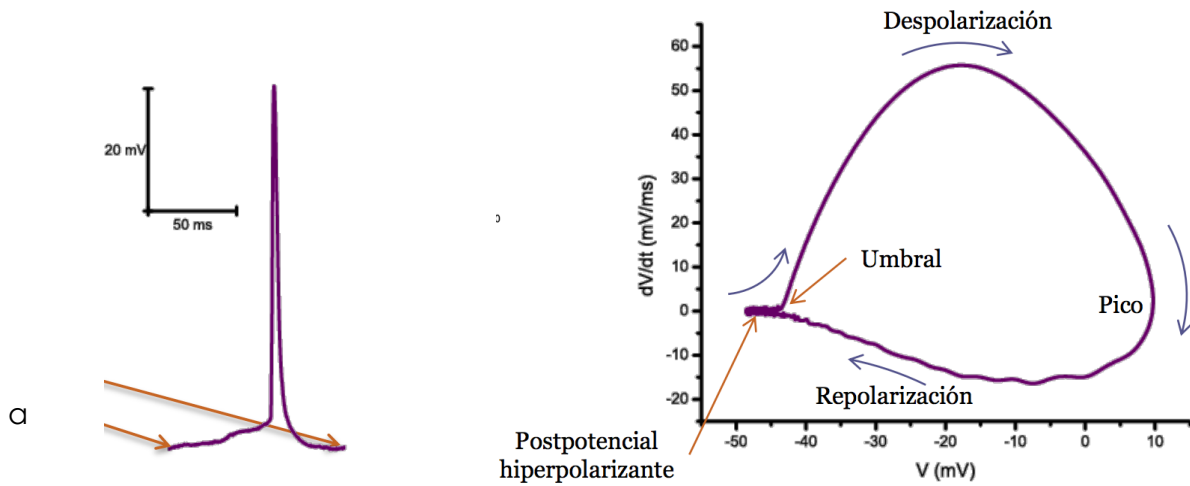


Figura 21. Ejemplo de V-dV

En la figura b se puede observar como cambia el comportamiento de la onda al analizarla con respecto al cambio del tiempo, justamente el cambio en la señal que es la parte de la despolarización hay un incremento. Todo el proceso se vuelve cíclico.

Protocols

Esta sección esta destinada para la creación de protocolos para facilitar al usuario la realización de experimentos. Particularmente esta enfocado para que el usuario ingrese todos los parámetros correspondientes tales como el tiempo y el tipo de señal para que en la sección a explicada anteriormente en Chapter. Introducción del software, pueda simplemente indicar el tipo de protocolo haciendo más sencillo el proceso.

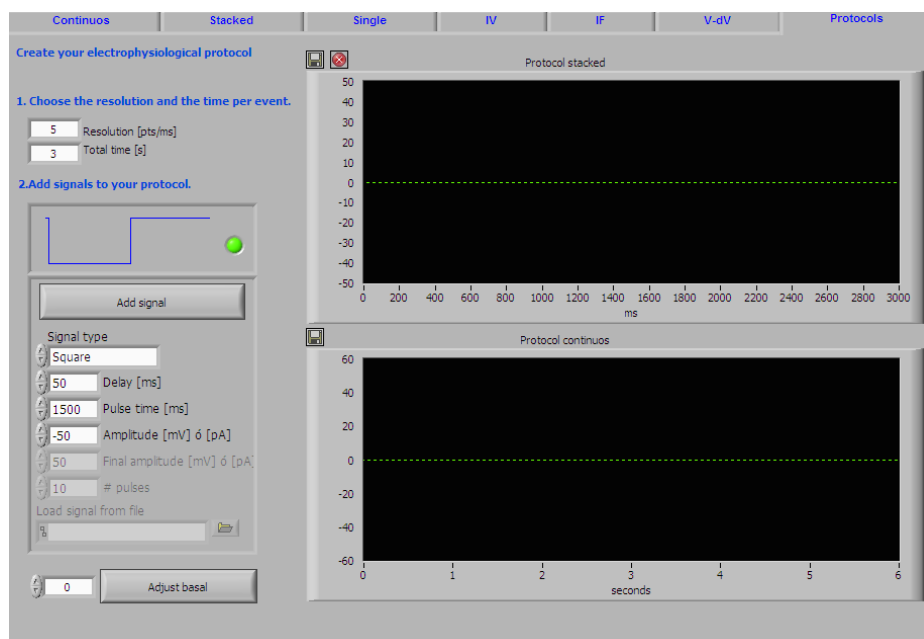
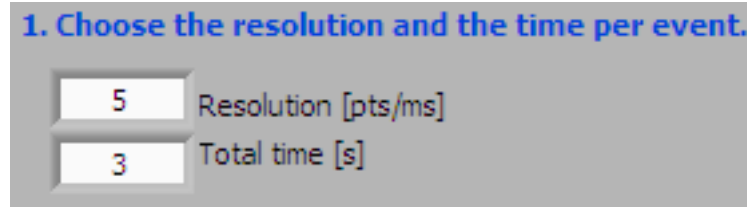


Figura 22. Pantalla de configuración para el protocolo.

Se tiene 2 secciones para la configuraciones correspondiente de los parámetros para la creación de un tipo de protocolo.

1) Choose the resolution and the time per event.



Cuenta con dos parámetros a configurar:

- Resolution

Es cuantas divisiones va a tener el dominio del tiempo el cual se encuentra en el eje de las absisas.

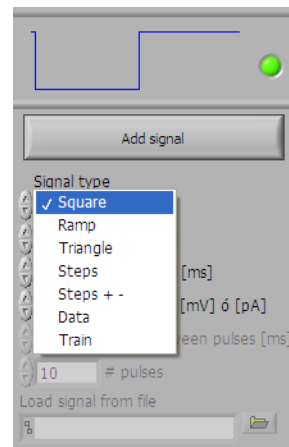
- Total time

El tiempo total el cual el usuario desea quiere que dure el experimento. Esto limita el tiempo que va a estar adquiriendo datos y mandando una señal por medio del electrodo.

2) Add signals to your protocol.

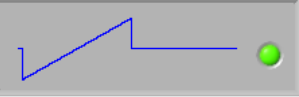


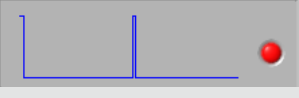
Se configura el tipo de señal el cual se desea con su correspondientes parámetros. Se tienen 7 señales diferentes:

- Square
- Ramp
- Triangle
- Steps +- [ms]
- Data [mV] ó [pA]
- Train [ms]



Estas señales tienen los mismos parámetros a configurar que lo que se vio en el Chapter. Introducción al software, sin embargo se va a mostrar como se ve en el "Protocol stacked" para que sea más sencillo comprenderlo.

Tipo de Señal	Protocol stacked	Protocol continous	Notas
<p>Square</p>			

Tipo de Señal	Protocol stacked	Protocol continuous	Notas
Ramp 			
Triangle 			
Steps +- 			
Data			
Train 			

Al oprimir el botón "Add signals" sirve para que añada a la sección Protocol stacked y continuous la señal seleccionada junto con sus respectivos parámetros preseleccionados por el usuario.

- Protocol stacked & continuous

Y se tiene una sección "Protocol stacked" que muestra la información que se esta configurando en los parámetros anteriores.

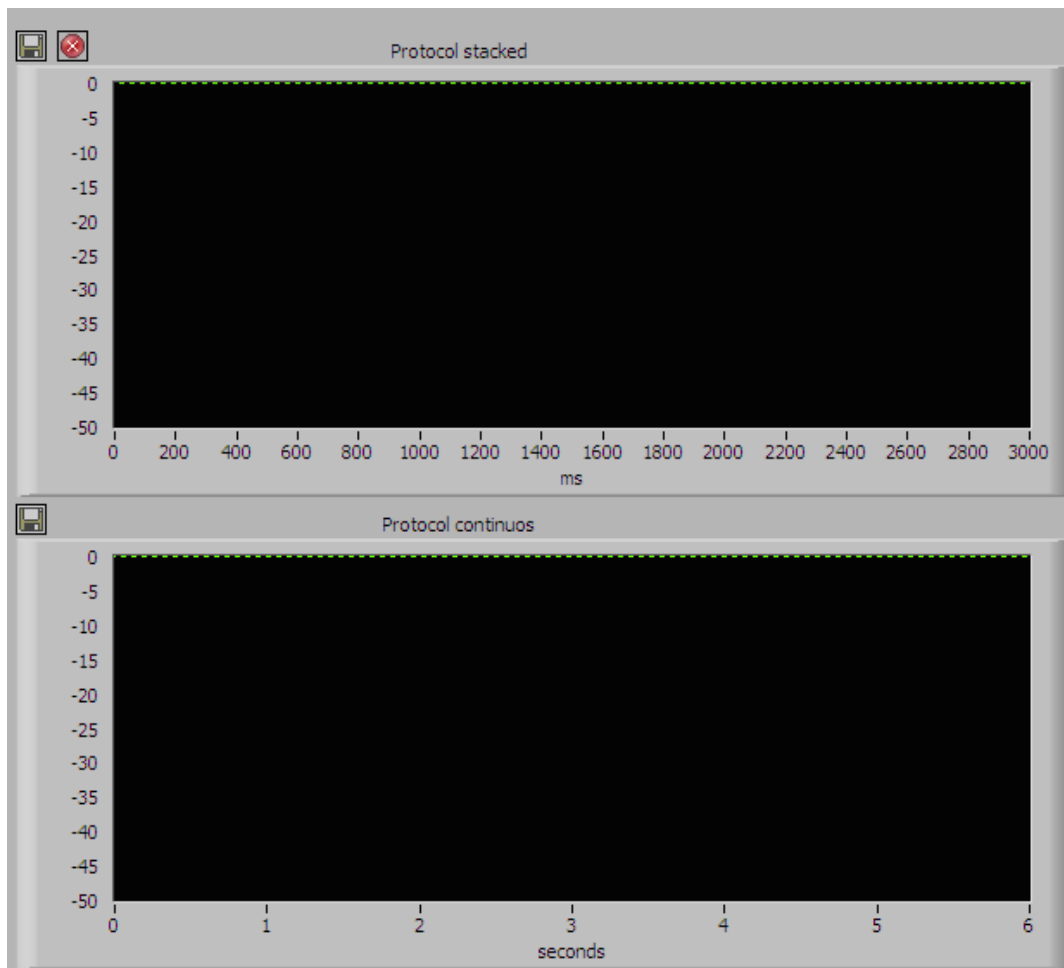


Figura 23. Muestra protocol stacked and continuous.

- * Conforme se oprime el botón de *add signal* en la sección de la gráfica Protocol Continuos se aumenta el ciclo de tiempo por lo que reduce el tamaño de la señal dependiendo del tipo de señal que se este manejando.

Chapter 3. Imagenología de Calcio

Al igual que se tiene una sección particular en la que se detalla de forma más explícita la parte teórica que respalda el método y en el que esta fundamentando el programa Im-Patch.

Parte teórica de Imagenología de Calcio.

La técnica de Imagenología de Calcio es un método relativamente nuevo, que se utiliza en el área de neurociencias con el objetivo de observar el comportamiento de las neuronas.

A grandes rasgos lo que se realiza es implementar un fármaco al cerebro del ratón ya sea por transfusión o por transgénicos (alterando el ADN del ratón) para poder detectar por medio de una longitud de onda particular (dependiendo del fármaco que se le haya colocado) la actividad que realizan las neuronas. Para poder realizar esto se hacen cortes seccionales al cerebro del ratón o rata y por medio de una cámara se hace una serie de fotografías para ver cuando las neurona se prenden.

Como se ha venido viendo cierto tipo de neuronas al realizar una actividad tiene un potencial de acción el cual para llevarse a cabo libera calcio. Lo que se hace es captar cuando una neurona libera calcio dado que significa que esta teniendo actividad y un potencial de acción. Esta cámara es colocada en un microscopio para observar la zona que se esta evaluando. Toda esta información es procesada y mandada a la computadora para ser analizada por el software Im-Patch. Lo que realiza el software es un filtrado de la imagen para que se pueda quitar el ruido y tener una mejor definición de cada una de las imágenes reduciendo 4 a 1 los pixeles. Luego se capta todas las neuronas que fueron encendidas y procesadas a blancos y negros para tener un contraste. El software puede contar de manera automática cuales fueron las neuronas encendidas e incluso encontrar patrones dado que toda la información lo guarda en una matriz de datos.

Por lo que la imagenología de calcio es una técnica muy utilizada que nos permite encontrar patrones y observar como esta comportando las neuronas a nivel red y no solamente una particular.

Programa

Una vez que se ha entendido como y para que funciona esta sección ahora se va a explicar cada una de las secciones que corresponden para poder entender y optimizar su funcionamiento.

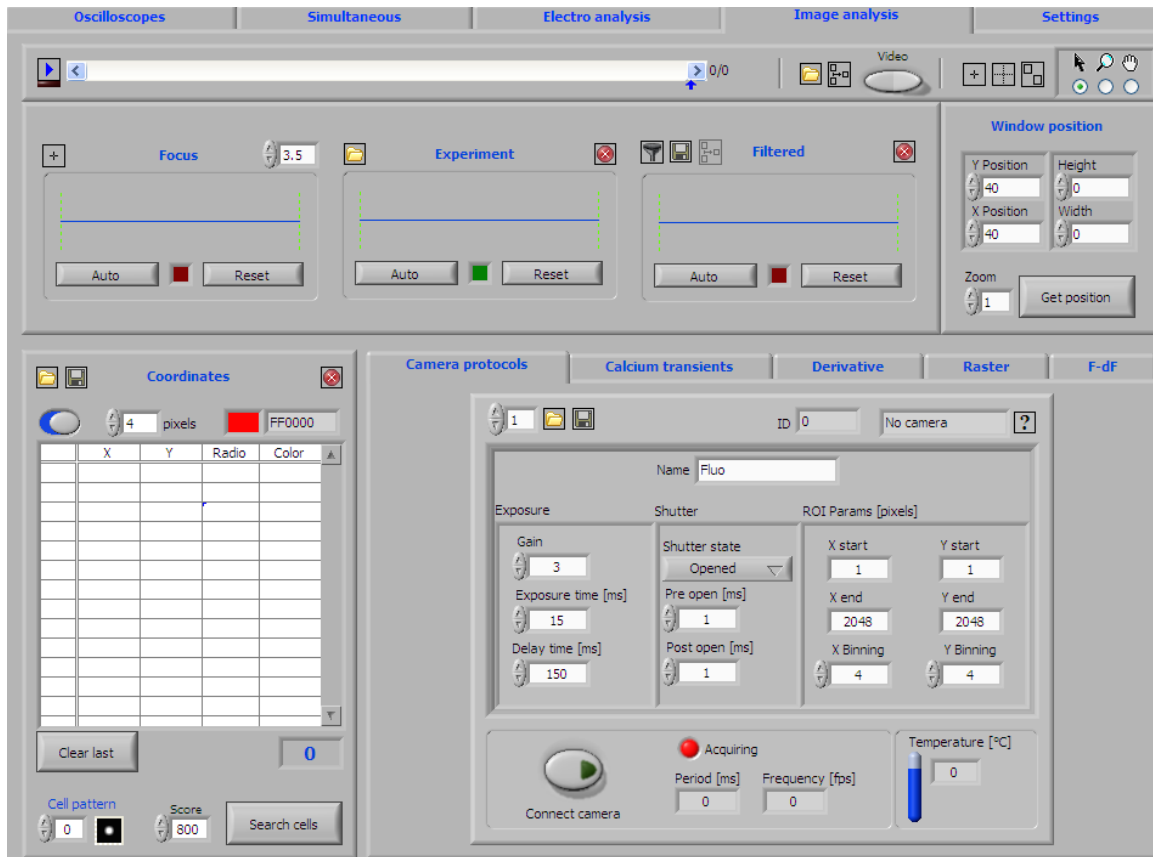


Figura 24. Pantalla general de la sección destinada para Imagenología de calcio llamada "Image analysis"

Como se puede observar en la figura la sección de Image Analysis tiene muchas partes. Para ser más detallados se explicara cada una de las partes para que se tenga un mejor manejo del software.


Es importante señalar que tal y como se vio en el Chapter. Introducción al software la sección a) de configuración de las señales y recepción de los datos es muy importante que se complementa con la configuración de esta sección.

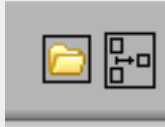

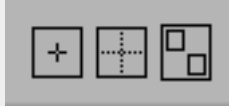



Parte 1

Figura 25. Parte 1

Como se puede observar en la figura , esta parte es la que se encuentra en la parte de arriba para hacer algunas especificaciones técnicas con respecto a los datos que se estén manipulando.

Descripción	Imagen
<p>Quando aparece los datos se va a ir moviendo este cursor y se puede posicionar en el tiempo que se desea.</p>	

Descripción	Imagen
Estas dos partes sirven para guardar en una carpeta específica los resultados que se estén realizando.	
Al oprimir el botón se está activando el modo video para que la cámara tome una serie de fotos y lo reproduzca como video.	
Al seleccionar cualquier de las 3 opciones es para mostrar cierta configuración en las gráficas.	
Para indicar que tipo de acción quieres realizar en las gráficas, ya sea seleccionar, zoom o desplazar la imagen.	

Parte 2: Focus, experiment y Filtered.

Una vez que se está realizando el experimento y se están obteniendo los datos van aparecer gráficas en la sección de *focus* en donde muestra los datos en tiempo real. Se puede ajustar la desviación estándar el cual es el enfoque que se tiene en la cámara captando las neuronas en actividad.

La parte de *experiment* se puede realizar cuando se tienen datos guardados y se desean reproducir. El tache es para detener lo que se este reproduciendo.

La parte de *filtered* es para poder filtrar la señal que se está teniendo y guardarla. Sirve para poder seleccionar datos específicos dentro de un experimento.

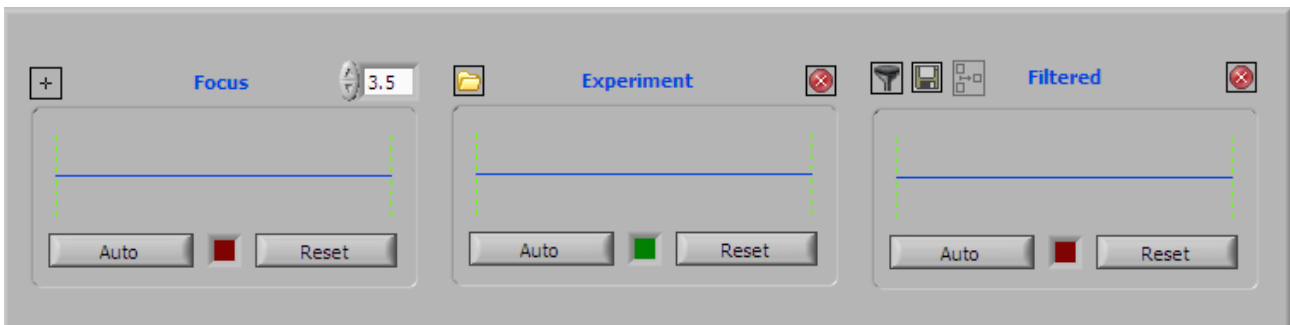


Figura 26. Focus, experiment y filtered

Los siguientes iconos son los botones que serán utilizados en esta parte y serán descritos para mejor entendimiento.

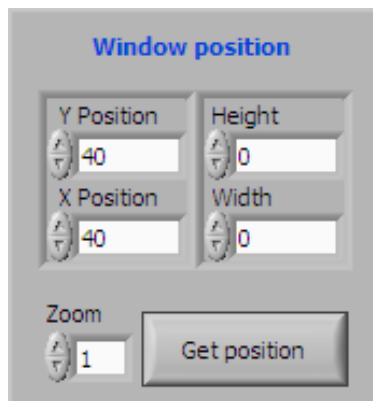
Descripción	Imágenes
	
Sirve para volver a iniciar la adquisición de datos.	

Descripción	Imágenes
	
Se ajusta la desviación estándar que influye en el ajusta de como capta la imagen la cámara. Entre más grande entra más luz. Es importante tener cuidado para no saturar la imagen y que todo se vuelva blanco.	
Al seleccionar filtros la señal que se esta teniendo y lo guardas.	
Detienes la reproducción.	

Parte 3: Window position.

Una de las partes más importantes de la realización de imagenología de calcio es el tener imágenes de lo que se esta realizando por lo que la siguiente parte esta especializada en el ajusta de la ventana en la cual se observa la reproducción de la cámara. Se puede ajustar tanto la posición en X y Y como el ancho y largo de la imagen que se esta reproduciendo.

De igual forma se puede seleccionar zoom y al oprimir el botón "Get Position" indicas que parte se desea observar.



Parte 4: Coordinates.

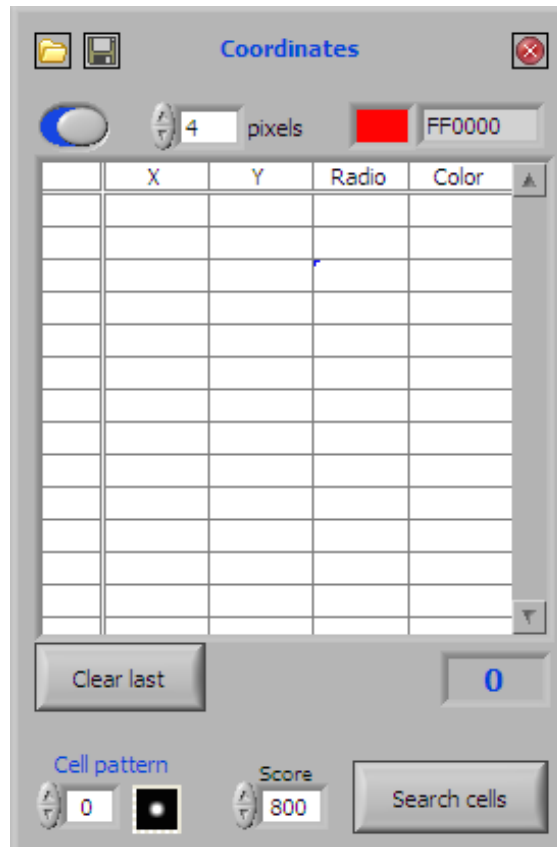


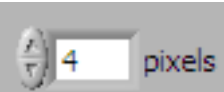



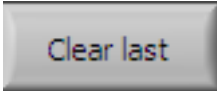



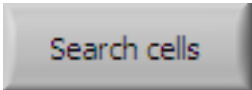
Figura 27. Coordinates.

Como se había mencionado anteriormente, una vez que se captan las imágenes el software esta programado para detectar las neuronas que están teniendo actividad, por medio de obtener un cierto valor de florescencia por la liberación del calcio al realizar un potencial de acción. Todos los valores los guarda en una matriz la cual esta conformado por la siguiente tabla observada en la figura.

Se puede apreciar que te brinda 4 datos: el valor en X, el valor en Y, el radio y el color. Por lo que indica la posición y que tan intenso fue ese potencial de acción.

Se van a detallar las partes importantes de la siguientes sección:

Descripción	Imagen
Para abrir archivos de datos previamente obtenidos y guardar los datos que se estan evaluando.	
	
Indica que número de pixeles que va a ir evaluando en la imagen para obtener la información. Usualmente esta relacionado con el valor del filtrado que se realizó.	
Selecciona el color que se desea colocar.	

Descripción	Imagen
Para limpiar lo último que se realizó en la tabla.	
Una vez que contabiliza las neuronas te indica el programa cuantas neuronas fueron encendidas en una laspso de tiempo.	
Existe de manera predeterminada en el programa formas para que el programa pueda detectar los patrones de las células. Puedes seleccionar el mejor que se adapte.	
	
Se oprime el botón cuando se desea iniciar el procedo de contabilizar las células q de los datos que se están obteniendo o que se tienen.	

Parte 5

En esta parte se cuentan con 5 diferentes ventanas las cuales son:

- Camara protocols
- Calcium transients
- Derivative
- Raster
- F-dF

Camara protocols

Esta sección en su mayoría fue previamente descrita en el Chapter. Introducción al software.

Esta parte es para configurar todo lo que tenga que ver con la cámara, la cual si se desea realizar imagenología de calcio es esencial.

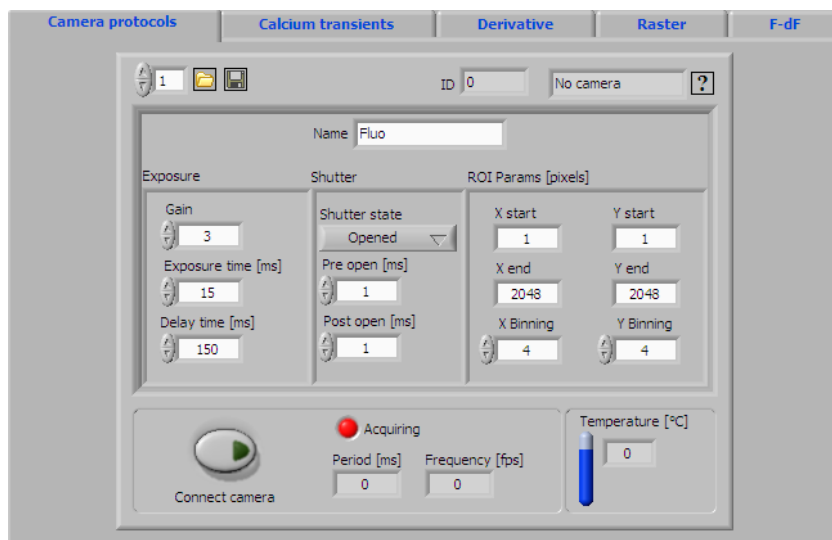


Figura 28. Camara protocols.

Una vez que se ha detectado la cámara indicará el programa que la cámara fue conectada y el ID que le corresponde. Para poder brindar más información acerca de como se puede configurar cualquier cámara en el software será explicado en la sección de Chapter. Especificaciones generales del hardware.

Se pueden apreciar 4 secciones en Camara protocols las cuales serán explicadas con mayor profundidad:

- Exposure

Esta sección esta destinada a la configuración de como la cámara va a sacar las fotografías.

Esta compuesto por 3 parámetros:

- Gain

Es la ganancia que se desea obtener de cada imagen, este parámetro depende del tipo de cámara que se esté manejando.

- Exposure time

Es el tiempo que se va a dejar capturando la imagen en la cámara antes de que el diafragma de la misma se cierre.

- Delay time

El tiempo que se va a dejar pasar entre una foto y otro. Muchas veces esto depende del procesado de la computadora que se este utilizando y del tipo cámara que se esta utilizando.

- Shutter

Esta sección es de como saca la foto.

Esta compuesto por 3 parámetros:

- Shutter state

- Preconfigura como se va a realizar la captura de la fotografía.

Se tiene varias opciones para este:

Opened

- Pre open

El tiempo que se desea antes la captura que se abra.

- Post open

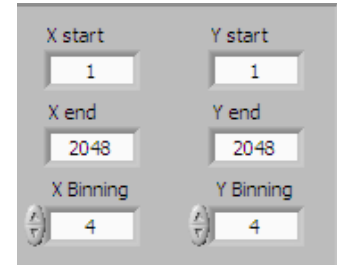
El tiempo que se desea que se deje abierto después de la captura.

*Usualmente se deja pre open y post open 1 ms para que no se tenga ninguna interrupción ni cambio en las fotos obtenidas por la cámara.

- ROI Params [pixels]

Son los parámetros de la imagen que va a tomar la cámara. Se puede configurar el X y Y en inicio y final. Usualmente estos parámetros vienen pre-definidos por el tipo de cámara. El programa tiene algunas cámaras pre-cargadas y de manera automática delimita el mínimo y el máximo valor.

El binning es el prefiltrado que recibirá la imagen para "comprimirla" y mejorar la resolución. Si se selecciona 4 significa que por cada 4 píxeles de la primera imagen, en la imagen creada será 1.



- Connection

Una vez que se tiene la configuración de la cámara y esta conectada se puede utilizar el: Connect camera. Se puede configurar ya sea el periodo o la frecuencia a la que va a operar la cámara. Igualmente esta limitada a cada tipo de cámara y al procesador de la computadora.

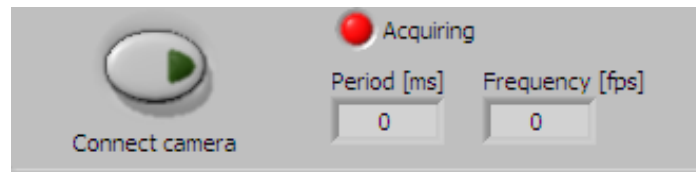


Figura 29.

Calcium transients

Esta configuración nos brinda información una vez que se están adquiriendo los datos ya sea en tiempo real o de datos previamente guardados.

Derivative

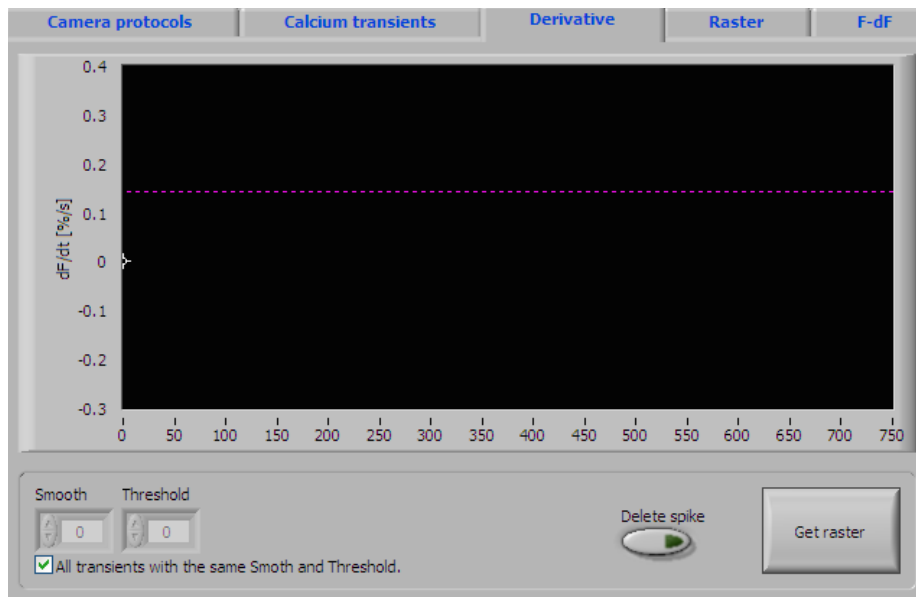


Figura 30.

Raster

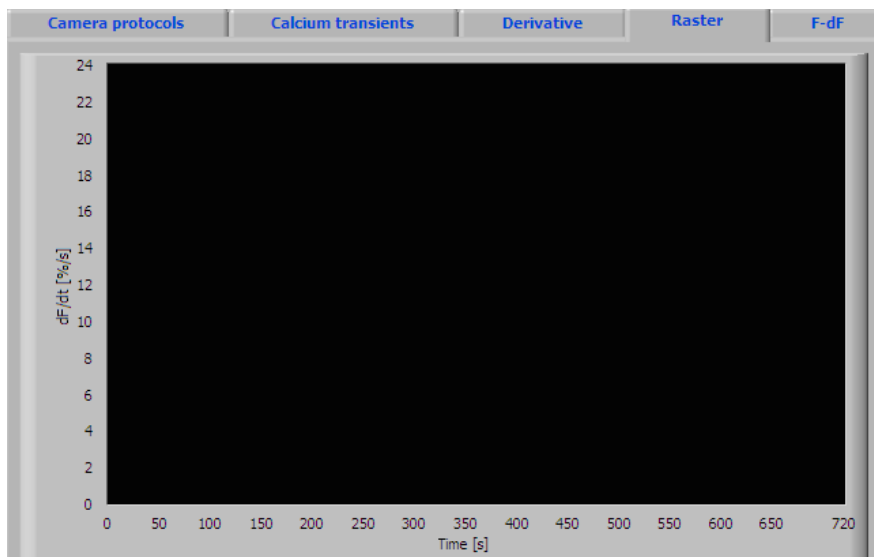


Figura 31.

F-dF

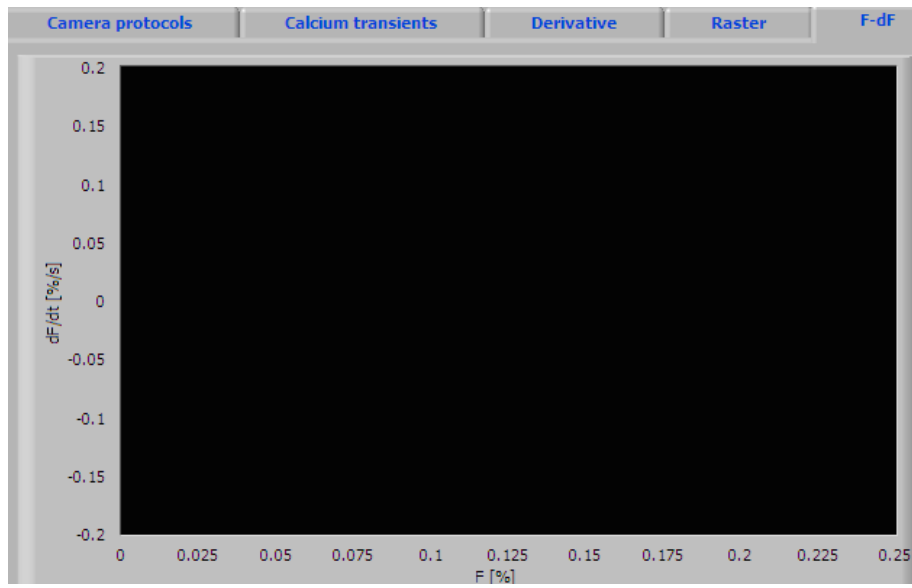


Figura 32.

Chapter 4: Simulateneous

Esta sección es una de las más importante que tiene el programa Im-Patch dado que tienes la facilidad de poder analizar ambos métodos: electrofisiología e imagenología de calcio. El fin de realizarlo de esta forma es brindar las herramientas necesarias al usuario para que pueda facilitar el proceso del análisis y así tener mayor variedad de experimentos.

En esta sección los datos que se están evaluando son en tiempo real.

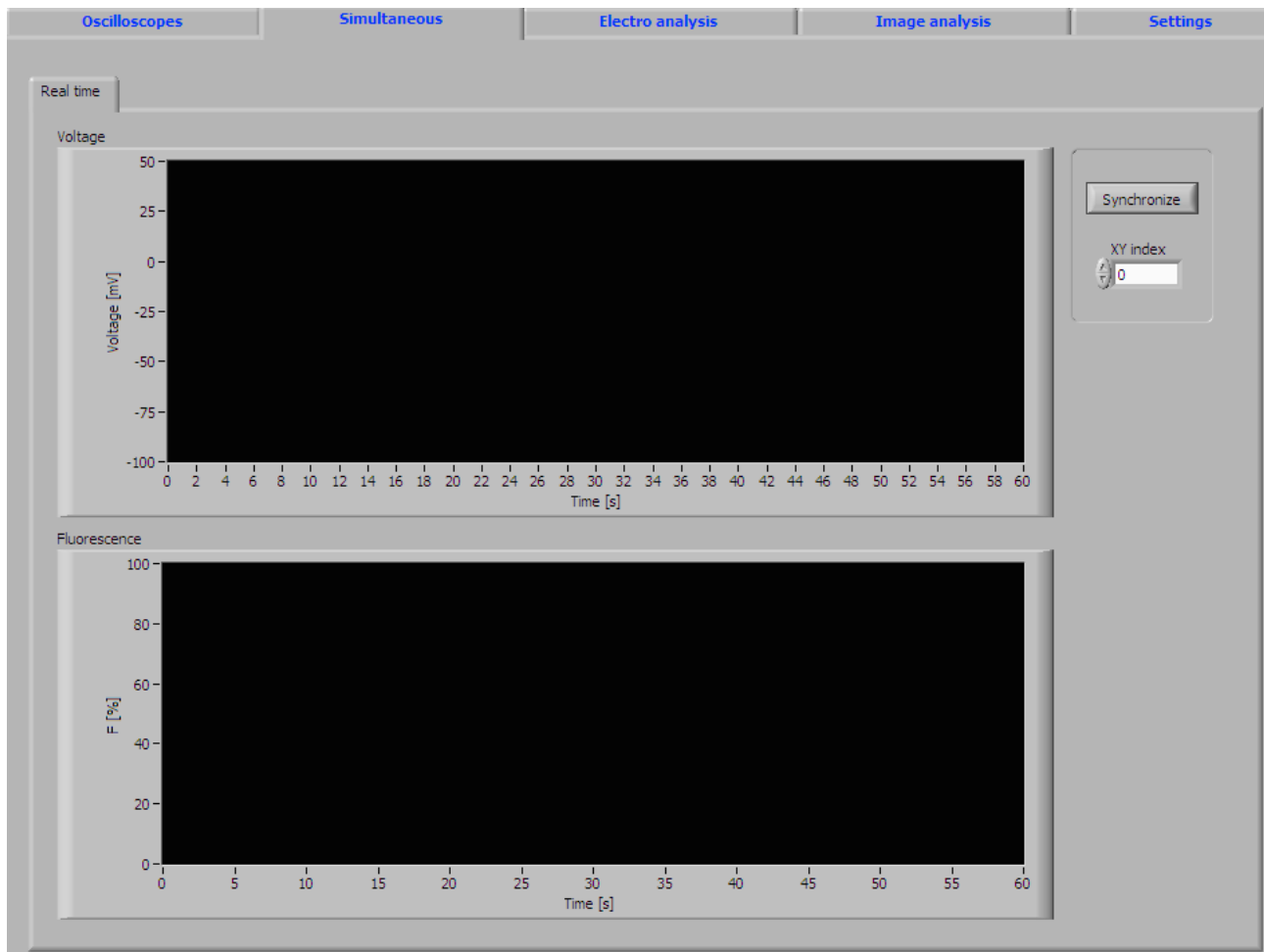


Figura 33. Función Simultaneous.

Como se puede apreciar en la figura. esta sección cuenta con dos gráficas la cuales son:

- Voltage
- Fluorescence

La sección de voltage esta dirigida al método de electrofisiología en donde, en este caso lo que se va a controlar es lo corriente para tener el comportamiento de la señal en las neuronas en voltaje. Se puede ver que esta evaluación se hace con respecto al paso del tiempo

Por otra parte se tiene la sección de fluorescence la cual esta dirigida al método de Imagenología de calcio. En este caso la gráfica lo que capta es el porcentaje de fluorescencia que capta a lo largo del tiempo, entre más porcentaje de florescencia se

tenga es probable que se este captando una neurona que realizó un potencial de acción.

Por otra parte se tiene a la derecha un botón llamado "Synchronize" el cual sirve para poder sincronizar ambas señales que se están obteniendo de cada una de las gráficas anteriormente mencionadas. El icono XY INDEX sirve para indicar la posición en la que se desea que se sincronicen ambas señales.

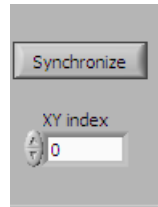


Figura 34. Configuración

Anteriormente se había mencionado en Chapter. Introducción del software acerca de cada una de las sección de control. Para recordar la sección de Simultaneous recording nos ayuda a configurar esta sección, particularmente en la parte de hardware. Le indicamos al programa cuales salidas utilizaremos e inicializamos el proceso con el botón verde tal y como se puede ver en la figura.

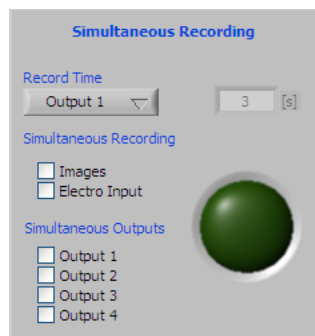


Figura 35. Simultaneous recording

Chapter 5: Settings

Esta sección esta destinada para poder controlar y configurar todo lo que involucra la comunicación entre el software, la computadora y el hardware.

El programa fue adecuado para tarjetas ADC (tarjeta convertidora de analógico a digital) es de National Instruments. Sin embargo el programa Im-Patch esta programada para que pueda adaptarse fácilmente cual tarjeta de este tipo.

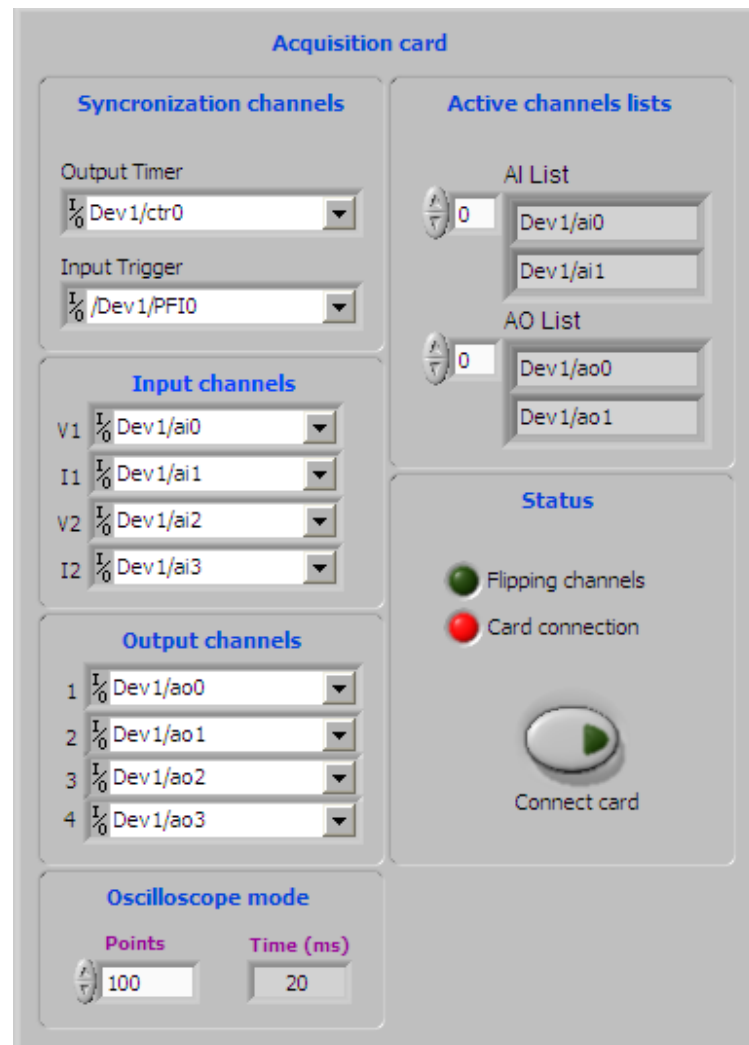


Figura 36. Settings

Como se puede observar se tienen diferentes secciones para configurar. Cada parte de las diferentes secciones que se tienen están representadas por algún plug de la tarjeta ADC por lo que antes de configurar o cambiar los parámetros es importante observar la tarjeta.

A continuación se explicará cada una de las secciones.

- Synchronization channels

Esta sección cuenta con dos elementos:

- Output timer

- Input trigger

- Input Channels

Es importante señalar que el programa Im-Patch fue programado con base en las tarjetas ADC de National Instruments que cuentan con 4 entradas. Cada uno de los plugs que tiene la tarjeta son los que se muestran en las opciones sin embargo es posible modificarlo para ajustarlo al que el usuario tenga.

Es muy importante recalcar que estas son salidas digitales por lo que el usuario debe asegurarse que que ocupe el puerto como entrada y con tales configuraciones para evitar daños o cortos.

- Output channels

De igual forma la tarjeta de National Instruments es de 4 salidas digitales. El programa esta previamente configurado con los nombres que le corresponden, sin embargo se puede modificar al que el usuario guste.

- Oscilloscope Mode

Dentro del análisis de datos y en el programa es muy utilizado el modo del osciloscopio. En esta sección se puede configurar a grandes rasgos para controlar el procesamiento de los datos.

Descripción	Imagen
Se refiere al intervalo de puntos que se desea evaluar en el osciloscopio.	
El tiempo que se desea evaluar un experimento dentro de la gráfica que se muestra del osciloscopio.	

- Active channels lists

Esta sección de igual forma es muy importante dado que son tanto las entradas como salidas analógicas. En el caso de la tarjeta de National Instruments se tienen dos respectivamente.

- AI List

Son las entradas analógicas de la tarjeta las cuales vienen configuradas como la tarjeta de National Instruments pero puede ser modificado.

- AO List

Son las salidas analógicas de la tarjeta las cuales vienen configuradas como la tarjeta de National Instruments pero puede ser modificado.




Es muy importante no combinar el tipo de información entre la digital y la analógica. La señal analógica es toda aquella que recibiremos o enviaremos como señales pueden ser voltajes o corrientes. La digital es la que envía información en 1 y 0, usualmente es como se comunicará la cámara con la computadora, etc. También es importante no confundir entradas o salidas dado que puede producir un corto.

*Información más detallada acerca de la tarjeta se puede observar en el Chapter. Especificaciones generales del hardware.

- Status

Esta sección brinda información necesaria para saber si la tarjeta ADC esta conectada, y vinculada con el software y la computadora.

Descripción	Imagen
Enciende cuando los canales han sido movidos.	 Flipping channels
El foco se encenderá cuando el software detecta que la tarjeta ADC ha sido conectada.	 Card connection
Se acciona el botón cuando se desea conectar la tarjeta al software.	 Connect card

Chapter. Especificaciones generales del hardware.

El programa Im-Patch necesita de la utilización de hardware especializado para su correcto funcionamiento dado que su principal función es la de que procesar datos obtenidos de las neuronas analizadas.

Se cuentan con algunos equipo los cuales serán descritos a continuación, sin embargo es importante recalcar que el uso del software no esta limitado a la utilización de esos dispositivos, de hecho se ha programado con la idea de poder implementar artefactos que tengan la misma función.

Dentro del hardware que es más utilizado es:

- Tarjeta ADC National Instruments
- Cámara
- Electrodo
- Amplificador

Las tarjetas de salida que el laboratorio del Instituto de Fisiología Celular para el que fue realizado utilizan los siguientes dispositivos:

Tarjeta Analogic Digital Convertor (ADC)

La tarjeta ADC es muy importante para el procesamiento de la información debido a que es la que vincula la información que se obtiene para poder registrarla y analizarla en el software.

En realidad tiene salidas y entradas tanto digitales como analógicas, sin embargo es de mucha importancia que toda la información que recibe pueda codificarla en digital para que la computadora pueda procesarla.

El tipo de tarjeta que se utiliza es: **National Instruments BNC-2110 XZ**



Figura 37. Tarjeta ADC

Tiene varias secciones las cuales se relacionan con lo que se puede observar en Chapter. Settings.

- La primera sección es donde tiene los plugs BNC los cuales se pueden comportar, en su gran mayoría, como entradas o salidas. En el software en la sección de Settings configuras cuales es la función que quieres darle.
- Trigger/Counter
- Digital and Timing I/O

Amplificador

El amplificador es de suma importancia, particularmente para la realización del método de electrofisiología dado que es el que brinda la señal de voltaje o corriente por medio del electrodo. En el software tenemos la capacidad de poder configurarlo digitalmente, sin embargo también podríamos hacerlo de forma manual.

El amplificador que se utiliza es: **BVC-700 A Bridge & Voltage Clamp Amplifier.**



Figura 38. Amplificador BVC-700a

Tiene una entrada y una salida en el cual va el electrodo.

Electrodo

Configuración del electrodo

Para la salida del electrodo primero se obtiene el voltaje o la corriente del amplificador pero es pasado por este aparato que permite controlarlo para el electrodo, tiene una salida para el mismo

El modelo que se utiliza es: DIGITIMER Ltd Model D52A



Figura 39. Digitimer Ltd