

Elevated plus maze (EP)

はじめに

地面より高いところに十字迷路を置く。十字迷路の南北方向のアームの外側には落ちないように壁がついている (closed arm) が、東西方向のアームは何もない (open arm)。通常マウスは狭い場所が好きなので壁のあるアームを好むが、open arm へも探索行動を行う。不安が強ければ closed arm にじっとしていることが多く、不安が低下していれば移動も多くなり、open arm により滞在するようになると考えられる。



これによりマウスの不安様行動を測定することができる。

セットアップ

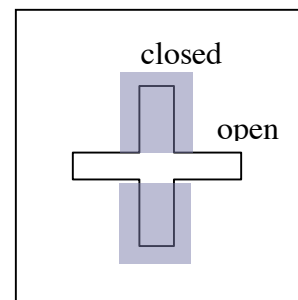
1. 実験開始までにワークシートを作成する。カウンターバランスに気をつけながら、マウスを入れる順番を決める。

※ 一つの chamber に入れる Control と Mutant の数が平均して同じ

※ 入れる順番を Control と Mutant と大体交互になるようにする (ただし一定の順序にしない)。

例) trial → ①+/+ ②-/- ③-/- ④+/+ ⑤-/- ⑥+/+ ⑦+/+ ⑧-/-, …

2. 十字迷路のセットアップ。もし水槽の中に十字迷路がセットされてなかったなら、水槽の底にある目印を元に十字迷路をおく。そのとき、closed arm を防音室の入り口のある面と垂直になるような向きにする。



3. 十字迷路の中央に照度計を置き、100 ルクスになるように設定する。
4. 実験開始最低 30 分前にはマウスのケージを防音室内の棚にいれ、マウスを環境に慣れさせておく。このとき、直接照明があたらないよう棚の一番上は避けること。
5. マウスを入れた後、防音室では静かにする。

6. パソコンを立ち上げる。
7. デスクトップ上にある Image EP のフォルダを複製する。
以下のファイル・フォルダが入っていることを確認する。
 - ・ Image EP 2.13x : ROI 設定・解析用ソフト
 - ・ Image EPC 2.03sxr : 実験用ソフト
 - ・ Human フォルダ : Error メッセージ用
 - ・ Images フォルダ : 撮影したマウスの動画
 - ・ Old フォルダ : 古いバージョンのソフト
 - ・ Parameters フォルダ : 各種パラメータ
 - ・ Results フォルダ : 全マウスの行動結果数値データ
 - ・ Sessions フォルダ : マウスの ID
 - ・ Traces フォルダ : マウスの行動軌跡画像データ
 - ・ Trimmed フォルダ
 - ・ XY Data フォルダ : マウス一匹ごとの XY 数値データ
8. 上にあるフォルダのうち、Images、Results、Sessions、Traces、XY Data フォルダの中身は捨てておく（前のデータが入ったままの場合）。
9. Image EP 2.13x を開く。Special → Start Capturing。四角の枠で maze を囲む。
10. SetField2 で枠決定。RecordPreferences で記録。
11. Image EPC 2.03sxr を開く。Special → CaptureTrials、session 名入力「test」。
テストマウスで一度実験を試行する。
12. Image EP 2.13x を開く。Special → SetplatformPosition1。Trial name 入力「test」。
Platform を囲む（中央の部分、やや大きめに）。
13. SetplatformPosition2 で枠決定。RecordPreferences で記録。

実験

1. Image EPC 2.03sxr を開く。Special → Start Capturing。カメラの画像を見て、まっすぐに迷路が置かれているか確認する。
2. Special → CaptureTrials。Session 名を入力（通常は groupID だが 2 部屋使用する場合は部屋番号を加える）。
3. 各種パラメータ入力。特に変更することがなければ、0（OK）を入力していく。「Enter trial name」となったら次に進む。
4. アームをスーパー次亜水で拭き掃除する。アームは取り外しできるようになっている。

※ 初回も行う（実験条件を同一にするため）。

※ アームを外す際に、迷路を動かさないように注意する。

5. Enter trial name : マウス ID を入力する。
6. Info ウィンドウ（通常画面左下にある）に「click to get background」と出てきたら、アームにマウスや糞などがいないことを確認してクリックする（Maze がずれていたら background をクリックする前に修正する）。
7. Info ウィンドウに「click after putting mouse」と出るので、ゲームパッドを持って防音室内に入る。
8. マウスを十字迷路の中央にのせて、ゲームパッドのボタンを押して防音室から出る。マウスをのせる時は、頭を closed arm の方へ向ける。この時、迷路に触らないように注意する。マウスの向きは一定方向に統一する。
9. 実験時間は (default で) 10 分。Info ウィンドウに経過秒数が表示されている。
10. 10 分後、Continue next ? (y / n) と表示されるので、次にマウスを入れるときは y、終了時は n を入力。
11. マウスを戻す。
12. 4—11 をくり返す。
13. 実験終了後は File → Exit で Image EPC2.03sxr を終了する。

注意事項

- ・ 実験開始前と実験終了後には部屋の室温を計りデータシートの空いている部分に記録する。
- ・ 実験終了後のマウスは空きケージに移すようにする。
- ・ 施行時マウスを置いてコントローラーボタンを押す場合に、防音室の外の照明は暗くして、バックグラウンドが外の照明で乱されない様にする。
- ・ 落下するマウスもいるのでメモしておく。

解析

1. Image EP 2.13x を開く。Special → EP analysis。Session 名を入力。
 2. Parameter を設定。特に変える必要がなければ 0 を入力していく。
 3. 自動的に画像解析が始まる。数にもよるが、10～20 分ほどかかる。
※ 解析結果に出てくる NS（南北）と EW（東西）が、どちらが open でどちらが close になるのかを記録しておく。
- 画像解析が終了したらネットワーク経由で実験データ保存用のハードディスクにある系統ごとのフォルダ内に EP というフォルダをつくり、そこに実験のデータをフォルダごとコピーする。

各マウスの実験結果は、**Result** フォルダの以下のファイルの中に入っている。

- **session name.st** ファイル：N, S, E, W, C (東西南北の各アームと中央部分での滞在時間(sec))、 $(N+S)/Total$ (南北のアームでの滞在時間(%))、 $(E+W)/Total$ (東西のアームでの滞在時間(%))、**TotalDis** (総移動距離)、の解析データが入っている。
- **session name.ne** ファイル：N, S, E, W, (東西南北の各アームへの進入回数)、 $(N+S)/Total$ (南北のアームへの進入(%))、 $(E+W)/Total$ (東西のアームへの進入(%))、**TotalEntry** (全てのアームへの総進入回数) の解析データが入っている。

基本の解析では **session name.st** ファイルに記録された **open arm** での滞在時間 (南北を **closed arm** にしていれば $(E+W)/Total$)、総移動距離 (**TotalDis**)、**session name.ne** ファイルに記録された **open arm** への進入回数 (南北を **closed arm** にしていれば $(E+W)/Total$)、全てのアームへの総進入回数 (**TotalEntry**) のデータを **StatView** で、遺伝子型を因子として分散分析を行う。

StatView で解析に用いたデータは **EP** フォルダ内に **StatView** フォルダをつくりそこに拡張子 **ssd** をつけて保存する。グラフは拡張子 **view** をつけて保存する。得られた数値を **DeltaGraph** のテンプレートファイルに入力し、グラフを改訂する。エラーバーは標準誤差(Standard Error of Means)を用いる。