

Open Field Test

チャンバーの差異に関する考察

MBA-Rep14002

2014年6月5日

マウス行動解析室

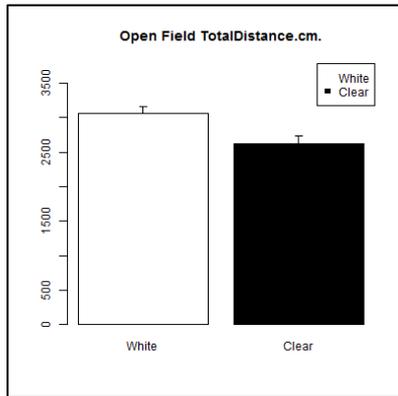
中西 和男

2つのチャンバー

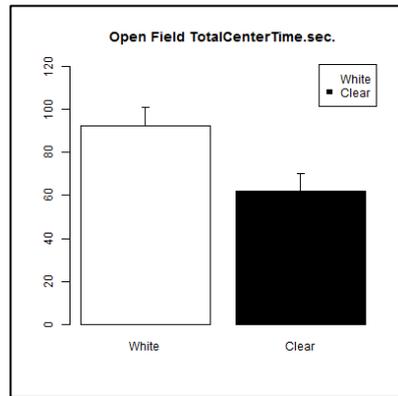


左は白色の不透明のチャンバー、右は透明のチャンバーで、大きさはともに40cm×40cm×30cm。上部からカメラでマウスの動きを記録し、画像解析により行動に関する指標を得る。

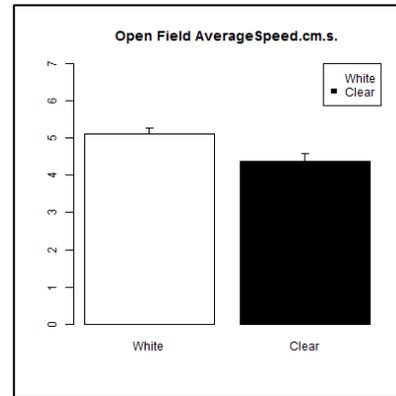
トータル・サマリ



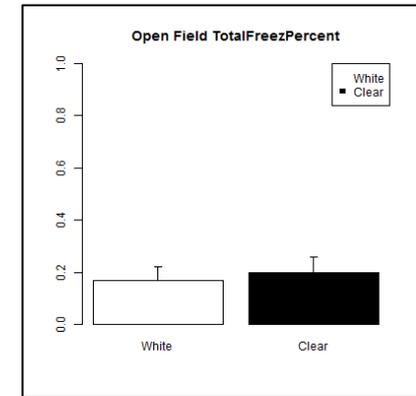
N: White=24、Clear=24
p=0.00513



N: White=24、Clear=24
p=0.013



N: White=24、Clear=24
p=0.00499

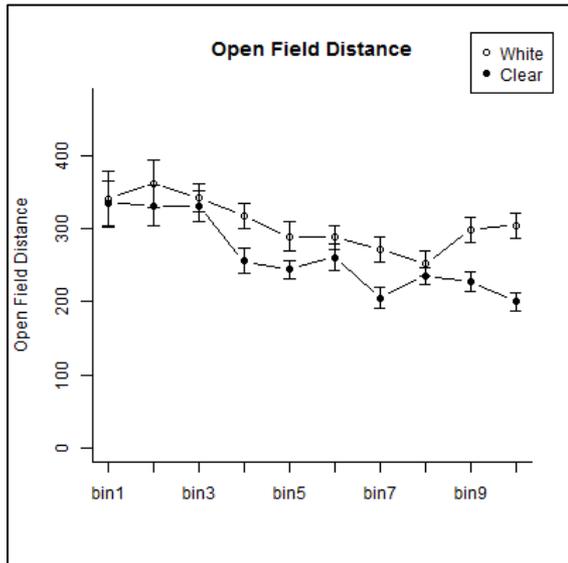


N: White=24、Clear=24
p=0.675

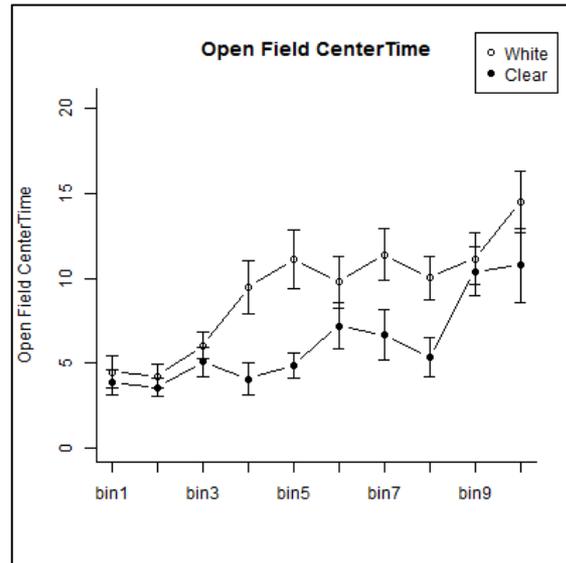
Total Distance、Total Center Time、Average Speedについては、White ChamberよりもClear Chamberで明らかな低下が見られ、有意差が顕著である。

Total Freezing Percentについては、そもそもfreezingがほとんど生じない状態であることもあり、White ChamberとClear Chamberとで、有意差があるとは言えない。

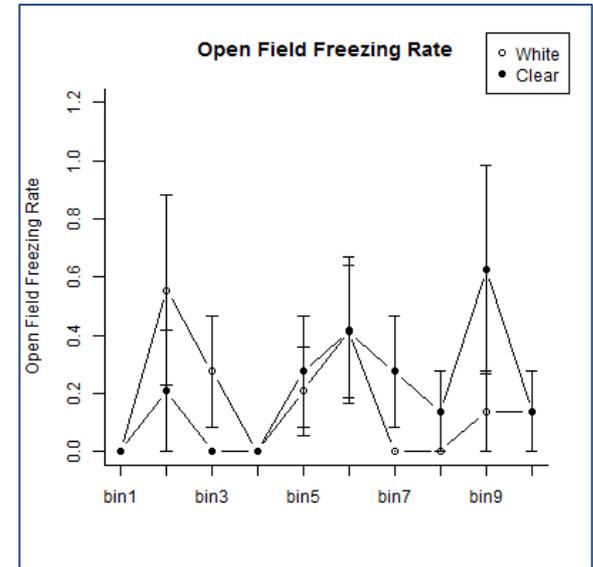
時間経過に伴う変化



N: White=24、Clear=24
p=0.00512



N: White=24、Clear=24
p=0.013



N: White=24、Clear=24
p=0.67

上図は、1分毎のDistance、Center Time、freezing(%)を表したものである。DistanceおよびCenter Timeについては、時間経過に伴い、減少あるいは増加の傾向が表れているが、freezingについては、時間経過に伴う変化は読み取れない。また、「トータルサマリ」に示したのと同様に、DistanceおよびCenter Timeについては、有意差がある。

Mice

使用したマウスの系統: C57BL/6JmsSlc ♂
各グループ 8匹

MouseGroup	チャンバー タイプ	DOB	ExpDate(Day1)	Age(Day1)
TEST_10th	White	070713	120213	141
TEST_11th	Clear	072113	011614	169
TEST_12th	White	090313	020314	141
TEST_13th	Clear	110413	040814	141
TEST_14th	White	111213	042414	163
TEST_15th	Clear	010714	060214	146

実施時	日齢	週齢
最小	141	20
最大	169	24
平均	150	21

計測内容(1)

画像処理

ImageOF

観察は、カメラでチャンバーを上部から、毎秒1フレームの割合で画像を取得し、二値化し、マウスを検出する。

検出されたマウスの像の重心位置を算出し、連続するフレーム間でのDistanceの算出に用いる。

また、算出されたマウスの重心位置が、チャンバーの床面の45%となる中央部分に入った場合、これを計数し、Center Timeの算出に用いる。

ImageFZ

ImageOFで取得された一連の画像を用いて、ImageOFと同様に、画像を二値化し、マウスを検出する。その検出されたマウス画像と連続するフレームでのマウスの画像との排他的論理和を算出し、得られた画像におけるマウスのピクセル数を計数し、これが2秒以上継続して一定値以下の場合に、freezingと判定し、これを計数、freezing(%)の算出に用いる。

計測内容(2)

計測指標

Distance	ImageOFによって計測期間(今回の場合は10分)中における移動距離の合計(cm)、1分毎の移動距離(cm)が得られる。
Center Time	ImageOFによって計測期間(今回の場合は10分)中における中央部分での滞在時間の合計(秒)、1分毎の滞在時間(秒)が得られる。
Average Speed	ImageOFによって計測期間(今回の場合は10分)中における平均移動速度(cm/sec)が得られる。
freezing	ImageFZによって計測期間(今回の場合は10分)中におけるfreezingの割合(%)、1分毎のfreezingの割合(%)が得られる。

統計処理

ANOVA

TotalDistance、TotalCenterTime、AverageSpeed、TotalFreezingに関しては、一方向の分散分析(ANOVA)を行っている。

使用したツールはGNU Rであるが、そのままでは操作性が悪いため、有限会社コムアヴェイルのR_Analyzerをユーザーインターフェースに用いて解析およびグラフ作成をおこなった。

Repeated measures ANOVA

1分毎のDistance、CenterTime、Freezingに関しては、繰り返しのあつる分散分析(repeated measures ANOVA)を行っている。

使用したツールはGNU Rであるが、そのままでは操作性が悪いため、有限会社コムアヴェイルのR_Analyzerをユーザーインターフェースに用いて解析およびグラフ作成をおこなった。

入手方法

ImageOF、ImageFZ

ImageOF、ImageFZは、ともにNIHのImageJのプラグインとして作成されたものであり、<http://www.mouse-phenotype.org/>から入手可能。

ImageJ

ImageJは、NIHで開発されたオープンソースでパブリックドメインの画像処理ソフトウェアであり、<http://imagej.nih.gov/ij/>から入手可能。

GNU R

GNU Rは、ニュージーランドのオークランド大学のRoss IhakaとRobert Clifford Gentlemanにより作られ、現在ではR Development Core Teamによりメンテナンスと拡張がなされているフリーソフトウェアである。<http://www.r-project.org/>から入手可能。