arXiv:2302.02692v1 [q-bio.SC] 6 Feb 2023

# 安培法轨迹的逐尖峰频率分析为时域观测结果提供统计验证

Jeyashree Krishnan,*, † Zeyu Lian,*, † Pieter E. Oomen,*, ‡ Xiulan He,*, ‡ Soodabeh Majdi,*, ‡ AndreasSchuppert,*, † 以及 Andrew Ewing*, ‡

†计算生物医学联合研究中心，亚琛工业大学，德国

‡化学与分子生物学系，哥德堡大学，瑞典

电子邮箱：krishnan@aices.rwth-aachen.de；zeyu.lian@rwth-aachen.de；pieteroomen@gmail.com；xiulan.he@gu.se；s_majdi59@yahoo.com；schuppert@aices.rwth-aachen.de；andrew.ewing@gu.se

**摘要**

安培法是一种常用的电化学方法，可用于实时研究胞吐作用过程。安培法操作具有很高的记录精度，因此产生的数据量可能从数百兆字节到数吉字节不等，因而需要系统且可重复的分析方法。尽管安培测量轨迹在时域中的尖峰特征包含胞吐作用动态的信息，但这些生化信号往往具有时变信号特性。具有时变特性的此类信号可能出现在不同频率，因此在频域中分析它们，或可为时域中已确立的观测结果提供统计验证。这也需要采用时变、频率选择性的信号处理方法，以便有效量化信号中的主频或平均频率。快速傅里叶变换（FFT）是一种成熟的计算工具，常用于找出淹没在噪声中的信号频率分量。在本研究中，我们概述了一种使用快速傅里叶变换（FFT）对安培测量轨迹进行基于尖峰的频率分析的方法，该方法还可对时域中的尖峰特征观测结果提供统计验证。我们通过使用模拟信号展示该方法，并进一步在由不同实验和各种化学刺激产生的多种安培法数据集上进行测试。据我们所知，这是首个专用于频域中安培法信号所提取尖峰分析的全自动开源工具。

# 缩略语

快速傅里叶变换、IVIEC、SCA、PSF、离散傅里叶变换、脑电图、脑磁图、肌电图、fMCI、弥散张量成像、二甲基亚砜、图形用户界面

# 关键词

统计分析　　是，频率分析，傅里叶变换，安培法，平均频率

安培法是一种常用方法，可用于实时研究胞吐作用的过程。它具有高灵敏度、出色的时间分辨率，能够精确量化释放的神经递质，并可直接观察分泌事件发生时的动力学，因此适用于分析胞吐作用。[1–3] 细胞在微电极尖端附近释放的儿茶酚胺经氧化后，便会产生安培法曲线。胞吐过程已得到深入研究，通常按以下分子步骤进行：1. 融合孔打开，从而检测到前尖峰足（Pre-Spike Foot，PSF）（由图 $I_{\mathrm{foot}}$1 $Q_{\mathrm{foot}}$中的 $t_{\mathrm{foot}}$ 足部参数表示）；2. 融合孔扩张，导致儿茶酚胺大量释放，在安培记录中表现为尖峰（陡峭的上升阶段，其特征由图 $t_{\mathrm{rise}}$ 1中的表示）；3. 融合孔闭合导致衰减阶段（由图 $t_{\mathrm{fall}}$ 1中的表示的（双）指数下降阶段）。安培尖峰的频率、形状及其出现顺序包含有关释放过程动力学的信息，而尖峰的面积则对应总电荷或释放的分子数量。[4,5] 对这些尖峰进行统计分析，有助于洞察不同样本间的模式和相关性；所需时间和资源相对较少，同时具有较高的可靠性和普适性。

微电极材料的选择取决于其是否适合高通量制造、能否实现精细的空间分辨率，以及能否满足单细胞分析的快速分析需求——最常用的材料是碳。[6] 胞吐作用过程中产生的尖峰可能包含有关细胞类型或细胞活动状态的信息。这些尖峰在时间上存在很大差异，也取决于用于诱导细胞胞吐作用的刺激类型。通常，由于扩散机制，尖峰的下降阶段可以用单指数或双指数函数拟合。基于安培法的不同技术可用于定量分析电活性神经递质（例如儿茶酚胺）。单细胞安培法（SCA）最早由 Wightman 及其同事于 20 世纪 90 年代提出。[7] 在显微镜的辅助下，将碳微电极置于缓冲液中的单个细胞上。参比电极置于同一溶液中附近的位置。对细胞进行（化学）刺

激后，细胞会释放停靠在细胞膜上的囊泡中的神经递质。由于施加了恒定电位，神经递质会在工作电极上被氧化；将数据绘制为随时间变化的曲线时，便会出现电流“尖峰”。对这些信号进行积分可得到电荷 Q，利用法拉第定律即可定量确定参与“尖峰”的分子数量。[8]

另一种安培法不测量释放分子的数量，而是利用相同的安培原理来定量储存神经递质的囊泡内容物，这种方法称为 VIEC（囊泡撞击电化学细胞计量法）。VIEC 使分离的囊泡吸附到微电极上，随后囊泡随机破裂，其电活性内容物继而在电极表面被氧化。与 SCA 类似，随后可通过分析产生的电流尖峰来定量分子数量。[9,10] 细胞内囊泡撞击电化学细胞计量法（IVIEC）使用插入单个细胞内的纳米尖端电极。[11] 这使得能够定量细胞内囊泡的内容物。结合 SCA 并比较分子数量，可以研究不同的胞吐模式（例如吻合并脱离、部分释放和完全释放）。事实上，研究发现，胞吐作用是一个受到高度调控的过程；无论在体外还是体内，囊泡内容物的部分释放都比全有或全无式胞吐更常见。[8, 9, 12–14] 囊泡撞击电化学细胞计量法能够直接定量分离囊泡中的儿茶酚胺储量。VIEC 与 IVIEC 类似，但它并非在活细胞内原位定量囊泡内容物，而是将囊泡分离出来，并收集为悬浮于细胞内生理缓冲液中的样品，以进行电化学细胞计量分析。[15]

与现代电生理实验类似，安培法实验也涉及数据的采集、显示和分析。[16] 由于安培法记录过程具有很高的精度，所生成的数据量可达数百兆字节至数吉字节。电化学领域已有多个结构完善、便于分析此类数据的程序，其中最常用的是 IgorPro QuantaAnalysis 软件。[5] QuantaAnalysis 是一款成熟的软件，专用于

安培测量轨迹的分析，可用于数字滤波和电流噪声分析、尖峰识别、计算超过 20 个尖峰的动力学参数，以及可视化。最常测量的尖峰特征包括尖峰下方面积（例如$Q_{\mathrm{spike}}$或 $Q_{\mathrm{foot}}$）、尖峰最大高度（$I_{\mathrm{max}}$）和半峰高处的尖峰宽度（$t_{\frac{1}{2}}$）（其中$I = \frac{I_{\mathrm{max}}}{2}$），如图1所示。

此外，QuantaAnalysis 软件还会以矩阵形式输出其他几个尖峰参数（形式类似于图7(B) 所示），从而能够逐个尖峰或通过平均值对特定轨迹进行表征。然而，使用 QuantaAnalysis 软件时，在确定尖峰提取阈值、选择基线区间以及在 Excel 中处理数据等方面，都需要进行半人工干预。此外，在 QuantaAnalysis 中必须分别处理每条安培测量轨迹，这会显著降低处理效率。另外，神经化学在安培法中的应用及其在单细胞分析中的应用仍处于发展阶段；由于数据性质复杂，各实验室分析轨迹的方法可能存在很大差异，因此难以比较不同来源的观测结果。[17]

此外，尽管可以认为，安培测量轨迹在时域中的尖峰特征包含有关胞吐作用动态的信息，但这类生化信号往往具有时变信号特性（即从统计学角度看，它们是非平稳的）。具有时变特性的信号可能出现在不同频率上，仅凭时域观测可能难以捕捉其模式中的细微差异。因此，还需要采用时变、频率选择性的信号处理方法，以有效量化信号中的主频或平均频率。快速傅里叶变换（FFT）是一种成熟的计算工具，常用于查找被噪声掩盖的信号频率分量。[18–23] 该方法基于傅里叶分析，其原理指出，任何周期函数都可以表示为三角函数的无限可数和。[24]

快速傅里叶变换是一种高效计算时间

序列离散傅里叶变换（离散傅里叶变换）的方法，可用于信号的功率谱分析和滤波器仿真。所有这些测量都是时变的。频率分析已广泛应用于数字图像处理重建、微分方程数值求解、多重时间序列分析、滤波等诸多领域。[25–29] 在生物医学信号处理领域，快速傅里叶变换广泛应用于脑电图（脑电图）、脑磁图（脑磁图）、肌电图（肌电图）、功能性多神经元钙成像（fMCI）、钙荧光轨迹分析以及弥散张量成像（弥散张量成像）数据。[30,31]

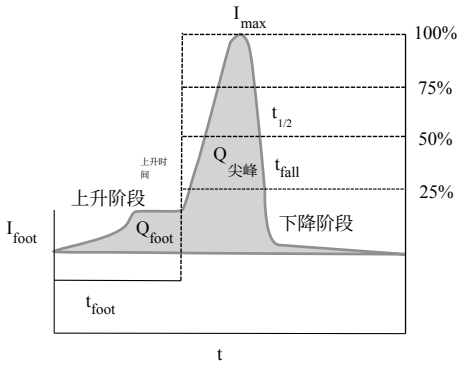



图 1：时域中的尖峰参数：安培法尖峰由尖峰前基部（PSF）、上升阶段、尖峰和下降阶段构成。其中，$I_{\max}$ 为峰值电流，$t_{\text{rise}}$ 为上升时间（从 $I_{\max}$的 25% 到 75%），$t_{\frac{1}{2}}$ 为半峰宽，$I_{\text{foot}}$ 为尖峰前基部电流，$t_{\text{foot}}$ 为尖峰前基部持续时间，$Q_{\text{spike}}$ 为尖峰的电荷，$Q_{\text{foot}}$ 为尖峰前基部的电荷。

在本研究中，我们提出了一种针对安培测量轨迹进行逐尖峰频率分析的方法，并表明，除获取关键信息外，该方法还能够对时域轨迹中的观测结果提供统计验证。我们通过尖峰宽度与平均频率之间的关系来阐释这一方法：由高频振荡产生的窄尖峰，其平均频率预计会高于较宽的尖峰（如图示 Fig. 2 中所示）。安培测量轨迹在单条轨迹内以及不同轨迹之间均呈现出多种尖峰形状，而在特定刺激和细胞类型下，这些形状的统计特征通常保持一致。因此，这为频域分析方法提供了一个非常有趣的研究领域。此外，我们使用 Python 实现的专用于安培测量轨迹的频率分析处理流程也已开源（请参阅补充章节）。

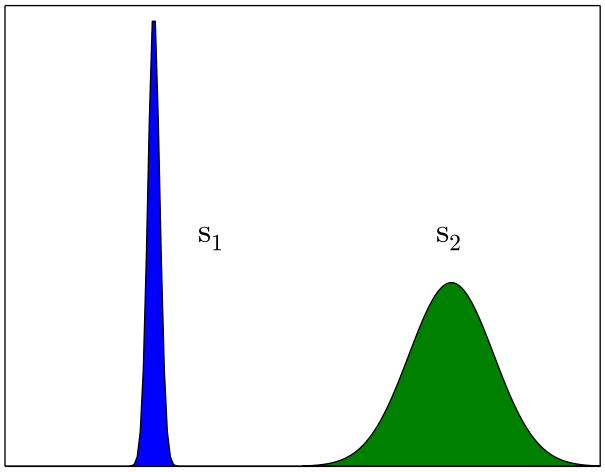



图 2：尖峰形状与平均频率之间的关系：考虑从安培测量轨迹中出现的两个尖峰， $s_1$表示高频振荡（因此尖峰较窄）， $s_2$ 表示低频振荡（因此尖峰较宽）。我们预计，曲线越宽，平均频率越低，即 $f_{\text{mean}}(s_1) > f_{\text{mean}}(s_2)$。

ysis 处理流程专用于安培测量轨迹，我们使用 Python 实现了该流程，现已开源（请参阅补充章节）。

本文结构如下：首先，我们以模拟信号进行概念验证，阐释频率分析的思路；随后概述上述候选数据集的主要结果；然后总结这项工作并简要给出结论。最后，我们深入介绍快速傅里叶变换，并简要说明软件包实现。关于数据生成的实验方法、数据集属性以及频率分析程序的更多细节，请参阅补充信息部分。

# 结果与讨论

## 数据集概述

我们通过使用模拟信号展示该方法，随后在不同刺激条件下通过不同实验获得的多种安培法数据集上对其进行测试

。模拟信号或人工尖峰序列由具有线性上升和高斯衰减特征的尖峰生成。我们选择了三个候选数据集来探索频域：1. 霍夫迈斯特系列数据集，[32] 2。二甲基亚砜（DMSO）数据集，[33] 以及 3. 电极数据集（首次发表于本研究）。霍夫迈斯特系列数据集非常适合用于展示逐尖峰频率分析方法能够保留时域尖峰特征。He 等人对无机阴离子与胞吐作用之间的关系进行了研究。[32] 研究表明，阴离子会调节胞吐过程中的孔道几何形态、开放持续时间和孔道闭合。

具体而言，当用 $K^+$ 溶液中的霍夫迈斯特序列对阴离子（$Cl^-$、$Br^-$、$NO_3^-$、$ClO_4^-$、$SCN^-$）刺激嗜铬细胞时，尖峰宽度（包括 $t_{\text{rise}}$、$t_{\frac{1}{2}}$ 和 $t_{\text{fall}}$）会增加，而 PSF 参数（包括 $N_{\text{molecules}}$、$\frac{N_{\text{foot}}}{N_{\text{events}}}$ 和 $I_{\text{foot}}$，其中 $N$ 是分子数，$I$ 是电流）则会按照霍夫迈斯特序列的顺序降低，同时所有刺激下出现的尖峰事件数量似乎相近。使用离液阴离子（如 $SCN^-$）刺激时，融合孔的扩张和闭合时间比使用促结构离子（如 $Cl^-$）刺激时更长。因此，霍夫迈斯特系列数据集已在时域中得到充分研究。

另一种化合物二甲基亚砜也已被证明会影响融合孔开放速率并增加神经递质含量，同时不改变囊泡内容物。不同于例如霍夫迈斯特序列，二甲基亚砜仅影响上升阶段，$t_{\text{rise}}$。DMSO数据集通过在使用纳米尖端电极的嗜铬细胞上开展IVIEC 实验生成。对照数据集和 0.6% DMSO数据集的时域分析已经建立，因此为频率分析提供了一个有趣的数据集。我们还在电极数据集上演示了频域分析方法；该数据集由使用三种电极材料——碳、铂和金——对嗜铬囊泡开展VIEC 实验构成。

## 使用模拟信号进行假设验证

为验证尖峰形状与平均频率之间关系的假设，我们生成了在时域中模拟霍夫迈斯特离子行为的模拟信号。为模拟安培尖峰，这些人工尖峰由线性上升段和高斯衰减组成。请注意，高斯衰减对指数衰减的安培尖峰进行建模；与狄拉克δ尖峰相比，它能更准确地模拟信号衰减。

人工生成的尖峰序列模拟了霍夫迈斯特系列数据集在时域中观察到的行为，例如，与结构破坏性离子产生的宽尖峰（低频振荡）相比，霍夫迈斯特序列中的结构形成性阴离子会产生较窄的尖峰（因此会产生高频振荡）。换言之，在时域中，$t_{\frac{1}{2}}$ 人工尖峰的尖峰宽度中位数沿“霍夫迈斯特”顺序平均呈增加趋势（见图3）。

因此，我们在人工数据中为每种阴离子类型指定了一个与其他类型互不重叠的宽度范围，如图3（A）所示。由于每个人工数据类别生成的样本数量充足，且各类别之间分布均匀，因此我们看到，各类别的均值标准误误差条宽度都很短且相对一致，同时置信区间较高。此外，关于人工数据生成流程的详细说明，请参阅补充章节。

我们发现，人工生成的尖峰序列的平均频率均值沿霍夫迈斯特序列逐渐降低，无一例外；这与真实数据的观测结果一致。由于越窄的正弦函数振荡频率越高，因此，像$Cl^-$ 这样的促结构阴离子也会表现出类似的情况，如图3(B)所示。

## 安培法数据集的观测结果

在时域中，霍夫迈斯特数据集轨迹的尖峰宽度中位数的均值按霍夫迈斯特序列增加，但硝酸根离子除外（图

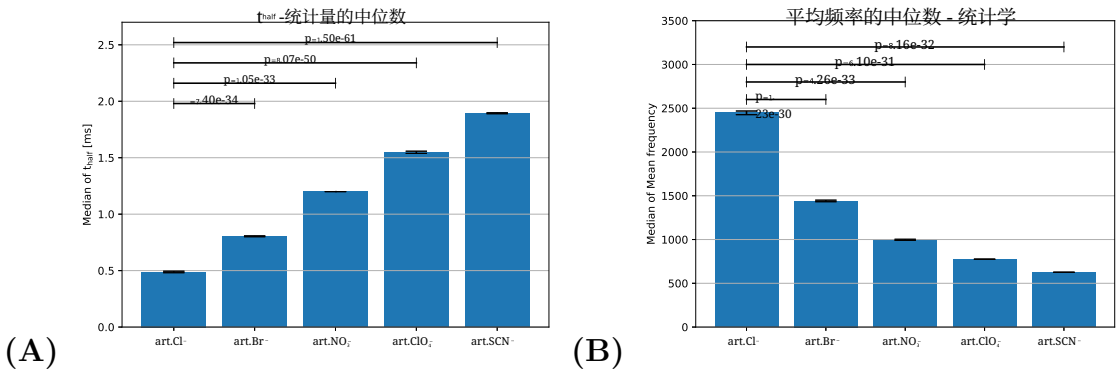



图 3：对模拟信号进行快速傅里叶变换：（A）通过 $t_{\text{half}}$的中位数显示时域中的尖峰特征。（B）通过平均频率的中位数显示频域中的尖峰特征， $f_{\text{mean}}$。模拟尖峰序列中平均频率的类霍夫迈斯特排列（“art”代表人工生成）。 $t_{\text{half}}$ 的中位数与平均频率的中位数的均值标准误由误差棒表示。

4。在频域中，平均频率随霍夫迈斯特序列降低；由于尖峰形状与平均频率之间存在反比关系，平均频率恰好按相反序列增加。氯酸根离子与硝酸根离子之间的非典型排序在频域中同样得到了体现（图 4的右图）。

DMSO孵育仅影响某些尖峰特征，具体而言，它会增加$t_{\text{rise}}$。这一点从时域中尖峰宽度的中位数可以看出，其中对照组显示的中位数均值低于 $t_{\text{rise}}$ ，而DMSO则较高。在频域中，DMSO的平均频率总体较低（图 5）。在我们的第三个也是最后一个候选对象，即电极数据集中，也可以观察到类似结果（图 6）。

每个类别的均值标准误误差棒及相应的置信区间反映了样本量（$5 - 10$ 每个类别）的影响，例如在样本量较少的电极数据集中即可看到这一点。此处作为候选对象使用的数据集及其各自的样本量和其他属性总结于补充章节中。

因此，该方法适用于在频域对任何安培法数据集进行统计验证。不过，值得注意的是（正如从电极数据集中所见），样本量和测量时长也起着关键作用。过于

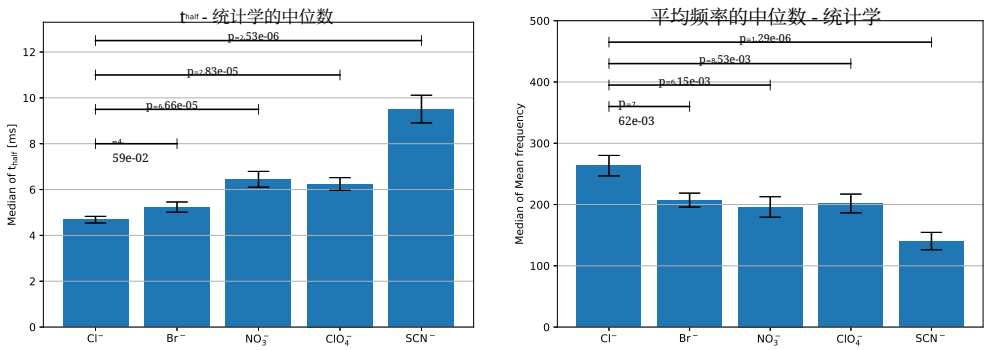



图4：霍夫迈斯特数据集上的快速傅里叶变换。左：由不同阴离子刺激引起的时域尖峰特征，以 $t_{\text{half}}$表示。右：频域中的尖峰特征，以平均频率的中位数表示， $f_{\text{mean}}$。平均频率的中位数（以实心条表示）显示出对刺激阴离子的明显依赖性，即沿霍夫迈斯特序列（此处从左至右）递减，但$ClO_4^-$阴离子除外；该阴离子在时域分析中也表现出异常。此外，跨细胞的平均中位数 $t_{\text{half}}$ 的标准误差和平均频率的中位数均由误差棒表示。

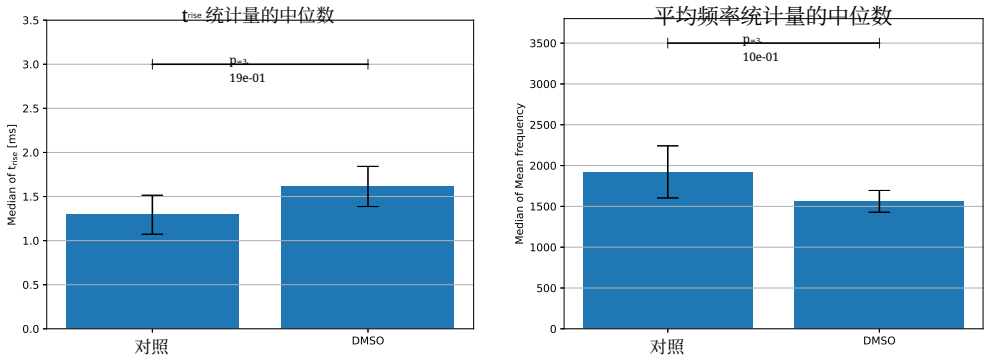



图5：对DMSO数据集进行快速傅里叶变换。左：通过 $t_{\text{rise}}$(25-100%)显示对照组和0.6%二甲基亚砜在时域中的尖峰特征。右：通过平均频率的中位数 $f_{\text{mean}}$显示频域中的尖峰特征。中位数 $t_{\text{half}}$ 和平均频率的中位数的均值标准误由误差棒表示。

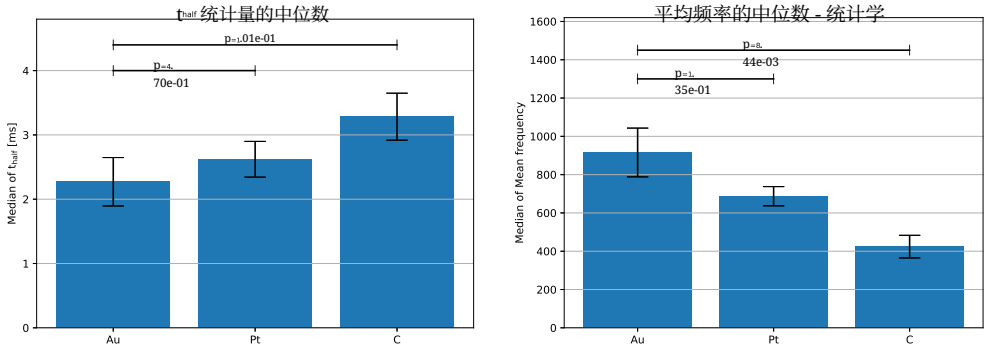



图 6：对电极数据集进行快速傅里叶变换。左： $t_{\text{half}}$显示时域中不同电极产生的尖峰特征。右： $f_{\text{mean}}$显示频域中的尖峰特征，以平均频率的中位数表示。误差棒表示 $t_{\text{half}}$ 中位数的均值标准误以及平均频率的中位数。11

每个类别的样本数量较少，或测量时间过短，可能不足以进行频率分析的统计检验，并可能导致置信区间极低。

尽管移除离群值或许可以解决误差棒过大的问题，但我们强烈不建议这样做，因为这会降低观测结果的可信度，尤其是在样本量较小时。本文所述的流程已作为一款开源工具提供，专门用于分析频域中的安培法信号。程序实现的详细信息也见补充章节。

# 结论

在本研究中，我们概述了一种针对安培测量轨迹的基于尖峰的频率分析方法，该方法还能对时域中的尖峰特征观测结果进行统计验证。据我们所知，这是首款可用于分析频域中安培法尖峰的全自动开源工具。我们证明，可以通过基于尖峰的频率分析获取时域信息。与需要通过图形用户界面和 Excel 手动操作的 IgorPro QuantaAnalysis 相比，所提出的方法为分析安培法数据提供了一种更系统的方式。

此外，我们列举了种类丰富的安培法数据集，展示尖峰形状与平均频率之间的关系。尽管频率分析方法的部分步骤依赖用户操作（例如数据滤波和截止因子的设定），但程序的大部分功能都已实现全自动化，并且在不同的安培法数据集上均能得出一致的结果。不过，该频率分析的实现形式是一个 Python 软件包，其成熟度不及 IgorPro QuantaAnalysis 软件；例如，后者具备自动分离重叠尖峰的功能。此外，该软件包没有图形用户界面，需通过命令行界面进行交互。另外，对于轨迹数量过少的数据集，这种方法可能并不适用。

此外，　　通过傅里叶变换方法可以评估信号中的所有频率　　-

但由于信号仅以频域表示，无法确定这些频率出现的时间。使用小波分析等能够同时在时间域和频域表示信号的方法，可以克服这一瓶颈。[34,35] 对检测到的尖峰进行离散小波分析，也将获得关键频率级别的时间定位。

# 方法

## 最先进的安培数据分析流程

正如引言中所述，安培测量轨迹是一维波形（或信号），也可以在频域中进行处理，因此频率分析可作为传统时域方法的替代方案。传统分析通常使用成熟的基于尖峰的安培数据分析软件 IgorPro Quanta- Analysis 完成。在最先进的 QuantaAnalysis 工作流程中，安培测量轨迹会导入程序，并在必要时使用滤波器进行预处理。

随后，基于预设阈值，利用预处理后的数据识别尖峰。接下来，对超过 20 种具有代表性的尖峰特征进行统计分析和可视化，包括时间参数，例如 $t_{\mathrm{rise}}$， $t_{\mathrm{fall}}$ 和 $t_{\frac{1}{2}}$；电流参数，例如 $I_{\mathrm{max}}$ 和 $I_{\mathrm{foot}}$；以及电荷参数，例如 $Q_{\mathrm{foot}}$ 和 $Q_{\mathrm{spike}}$ （如图 7（A）中工作流程的顶部序列所示，并在图 1中进行了示意）。此外，QuantaAnalysis 程序会将安培测量轨迹中所有尖峰的尖峰特征写入表格，类似于图 7（B）所示。

## 频率分析流程

在图 7(A) 底部序列所示的“频率分析”工作流程中，通过移除设备对准不佳所导致的不稳定数据，进行类似的预处理，随后进行低通滤波以去除噪声。少数信号可能不适用于自动

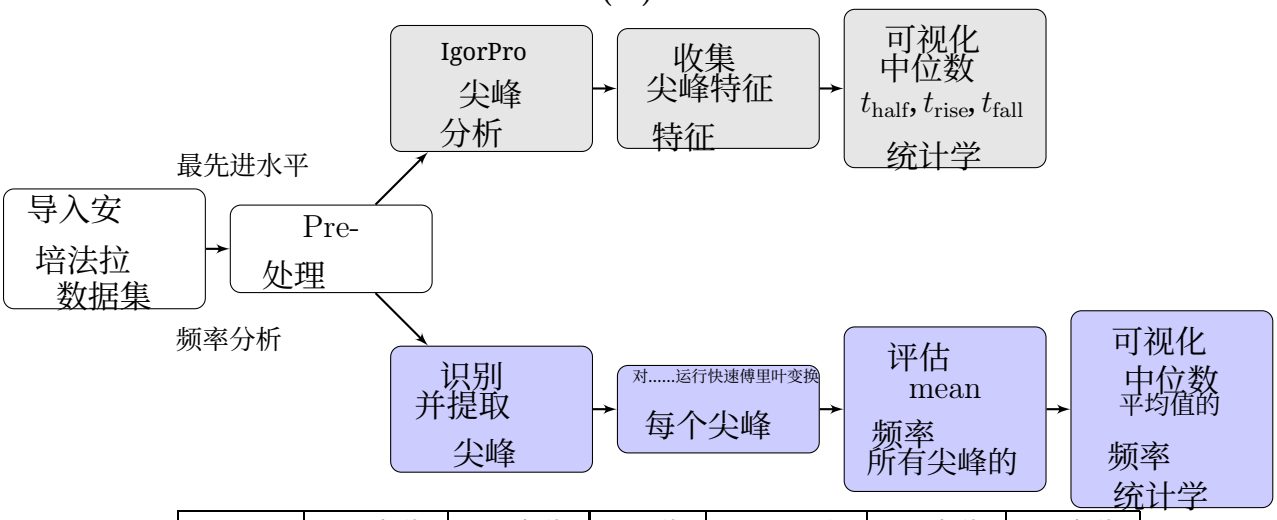
预处理，可能需要人工干预。这可能包括轨迹开头出现伪迹（例如振荡或“跳变”），或不时出现尖峰簇，以及实验中所用电极类型导致的噪声。比如，在电极数据集中观察到信号开头出现“跳变”，这可能是测量仪器对准不佳所致。

这可能会产生不切实际的尖峰，甚至导致程序崩溃。此外，我们还观察到数据集中偶尔会出现尖峰簇，即数百甚至数千个尖峰连续出现。在评估尖峰统计时，这类尖峰簇可能造成显著偏差。我们分析的所有数据集中都观察到了这些异常，其发生概率各不相同，通常由设备对准不佳造成。

在这些特殊情况下，我们建议手动处理这些轨迹；例如，忽略轨迹中含有伪迹的起始片段，或忽略被判定为属于某个尖峰簇的尖峰。完成此操作后，即可确定基线的标准差、$\sigma_{base}$ 和局部极大值。随后，对每个局部极大值进行分析，并与预先设定的阈值因子 $\times\ \sigma_{base}$进行比较。根据该阈值识别并提取尖峰，然后对每个尖峰应用快速傅里叶变换（FFT）（本节后文将更详细地讨论 FFT 方法）。

利用快速傅里叶变换，可以在频域中计算每个尖峰的平均频率。随后，可使用所有尖峰平均频率的中位数的均值（及相应的标准差）对轨迹进行统计分析（如图 7(C) 所示）。上述频域处理流程已实现为一个端到端的 Python 软件包，该软件包接收原始安培测量迹线，并输出平均频率及其统计量。软件包实现的详细介绍见补充章节。

**(A)**




**(B)**

| | $t_{1/2}$ [毫秒] | $t_{\text{fall}}$ [毫秒] | $t_{\max}$[秒] | $I_{\text{foot}}$ (皮安) | $t_{\text{foot}}$[毫秒] | $t_{\text{rise}}$[毫秒] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $\text{spike}_1$ | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· |
| 尖峰$_2$ | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· |
| ⋮ | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· |
| $\text{spike}_{n_1}$ | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· | ··· |

**(C)**

| 轨迹 ID | 尖峰 ID | $f_{\text{mean}}$ | 中位数($f_{\text{mean}}$) |
|---|---|---|---|
| 1 | 尖峰$_1$ | ··· | ··· |
| | 尖峰$_2$ | ··· | |
| | ⋮ | ··· | |
| | 尖峰$_{n_1}$ | ··· | |
| 2 | 尖峰$_1$ | ··· | ··· |
| | 尖峰$_2$ | ··· | |
| | ⋮ | ··· | |
| | 尖峰$_{n_2}$ | ··· | |

图7：安培测量轨迹分析：(A) 对比“最先进水平”方法所采用的工作流程与所提出的“频率分析”方法。前者使用 QuantaAnalysis 分析轨迹的时域尖峰参数，后者则在频域中分析尖峰。(B) 展示时域中输出的时间、电流和电荷参数概览。(C) 展示频域中输出的参数概览，即每条轨迹中的平均频率及其中位数。频域分析方法为最先进水平提供了统计验证。

## 傅里叶变换

安培测量轨迹是在时间上离散采样的信号，因此频率分析需要使用离散傅里叶变换（DFT）。DFT 是信号处理中常用的一种方法，可将时域信号转换为频谱，使我们能够描述信号的均值或主导频率特性。从数学角度来看，傅里叶变换将非线性函数分解为简单基函数（例如正弦函数和余弦函数）的线性叠加，这些函数相加后可重建原始信号。

此处的基函数必须构成标准正交基，以确保线性无关；傅里叶变换中的基函数是复指数函数。从计算成本来看，DFT 需要 $O(N^2)$ 次运算；当采样点数量较大时，计算成本会相当高。快速傅里叶变换通过数值方法将 DFT 分解为多个较小的 DFT，从而将运算复杂度降至 $O(N \log N)$。

考虑一个周期正弦信号，$f(t) = A\sin(2\pi\omega t)$，其中 $A$ 是信号的振幅，而 $\omega$ 是信号的角频率。该信号的傅里叶变换仅在 $\omega$ 和 $-\omega$处有值。对于这样的信号，如果波形随时间快速振荡，则称为高频信号（例如图 $s_1$ 中的 2）；如果变化缓慢，则称为低频信号（例如图 $s_2$ 2）。

对于多个信号的线性叠加，例如图8所示的情况，傅里叶变换可以揭示从这些信号中分解出的不同频率的三角函数成分。离散傅里叶变换会将一组 $N$复数 $x_n$ 转换为另一组数值 $X_k$，其定义如下：

$$x_n = \frac{1}{N}\sum_{k=0}^{N-1} X_k \exp^{\frac{2\pi jkn}{N}}$$

and

$$X_k = \sum_{n=0}^{N-1} x_n \exp^{\frac{-2\pi jkn}{N}}$$

其中， $N$ 是轨迹中的时间采样点数； $n$ 是当前正在考察的电流采样点； $\frac{2\pi k}{N}$ 是当前频率（0 到 $(N-1)$ Hz）， $X_k$ 是信号中频率 $k$ 的大小（由振幅和相位构成）。非振荡偏移只会改变系数 $X_0$。因此，在快速傅里叶变换中忽略 0 Hz 分量即可忽略基线偏移。请注意，通常在从频域逆变换到时域时会使用因子$\frac{1}{N}$。或者，也可以在离散傅里叶变换和离散傅里叶逆变换中都应用因子 $\frac{1}{\sqrt{N}}$。

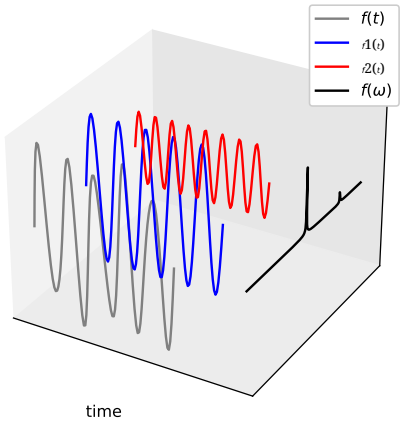



图 8：上图展示了傅里叶变换的原理：设时间-振幅空间中的一个信号（以灰色曲线表示）为$f(t)$ =正弦（$10\pi t$）+0.2余弦（$16\pi t$）。该信号可分解为时间-振幅空间中的 $f_1(t)$ =正弦（$10\pi t$）和 $f_2(t)$ = 0.2 余弦（$16\pi t$）（分别以蓝色和红色曲线表示）。对信号 $f(\omega)$进行傅里叶变换后，可在频率-振幅空间中分别显示这两个峰值频率（以黑色曲线表示）。

## 主频和平均频率

在对安培测量轨迹进行分析时，频率范围为 $[0, f_{\text{sampling}}]$。实验数据的采样频率为 $f_{\text{sampling}} = 10$ kHz，因此奈奎斯特频率是采样频率的一半，即 5 kHz。仅考虑低于奈奎斯特频率的频率分量时，所得离散时间信号

可以在不失真的情况下精确重建（这种现象称为混叠）。

分析得出的主频是振幅最大的频率，而平均频率则按能量平均频率计算，$f_{\text{mean}} = \sum k * \text{amp}(X_k^2) / \sum \text{amp}(X)^2$。请注意，分析完整时间序列（包括基线）时，除约 0 Hz 处的峰值外，不会显示任何特征频率（参见补充章节中的图9）。然而，采用基于尖峰的频率分析，可以真正了解这些轨迹的平均频率范围。

一旦建立了这种频率分析方法，就可以轻松观察尖峰形状（窄或宽）对平均频率的影响。结论部分通过模拟信号阐述了尖峰形状与平均频率之间的关系。还可以在时域中使用高频和低频三角信号作为傅里叶变换的对象，对这一关系进行解析证明（详见补充章节）。

## 资金支持

本研究的计算工作获得了 JPND Neuronode资助项目（编号：01ED1802）的支持；实验工作获得了欧盟地平线2020研究与创新计划下玛丽·居里资助协议（编号：793324）提供的 MSCA资助项目经费支持。

## 致谢

作者感谢 Mohaddeseh Aref、Zahra Taleat、Alex S. Lima、Elias Ranjbari 和 Johan Dunevall 提供数据。

# 可获取补充信息

## 分析验证

对整个时间序列（包括基线）进行快速傅里叶变换，除了约 0 Hz 处的峰值外，不会显示任何特征频率，因为缓慢变化的基线主导了信号。例如，参见图 9。

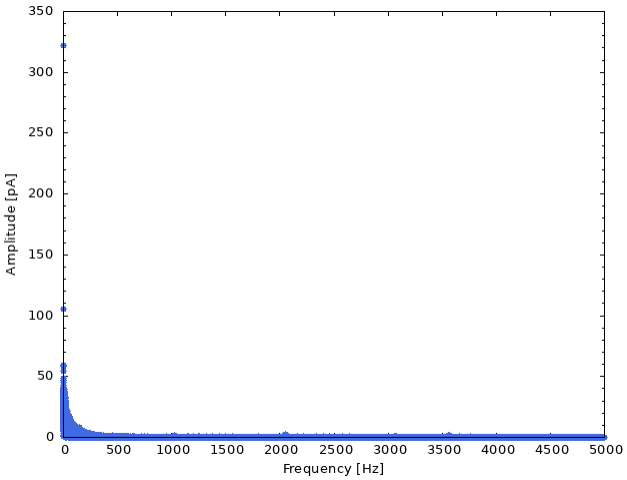



图 9：$Br^-$ 时间序列的快速傅里叶变换。所有其他数据也显示出接近 0 Hz 的峰值频率分量。

因此，应逐个尖峰应用快速傅里叶变换，以提取尖峰特定的平均频率。正如前文所述，本文提出该频域分析方法的依据是尖峰形状与平均频率之间存在关联这一假设。这里，我们展示了这一假设对两种简单波形（即正弦波形和对称三角波形）的证明。

### 正弦波形

对于给定的信号，$y(t)$，可以使用傅里叶变换将该信号转换到频域，$\mathscr{F}(y(t)) = Y(\xi)$。接下来，要计算平均频率，$f_{\text{mean}}$，需要计算 $|Y(\xi)|^2$ 的一阶矩与 $|Y(\xi)|^2$ 的期望值之比，其表达式为：

$$f_{\text{mean}}(\omega) = \frac{\int_0^\infty |Y(\xi)|^2 \ \xi \ d\xi}{\int_0^\infty |Y(\xi)|^2 \ d\xi} \tag{1}$$

其中， $|Y(\xi)|$ 的表达式为：

$$|Y(\xi)| = \sqrt{\text{Re}(Y(\xi))^2 + \text{Im}(Y(\xi))^2}. \tag{2}$$

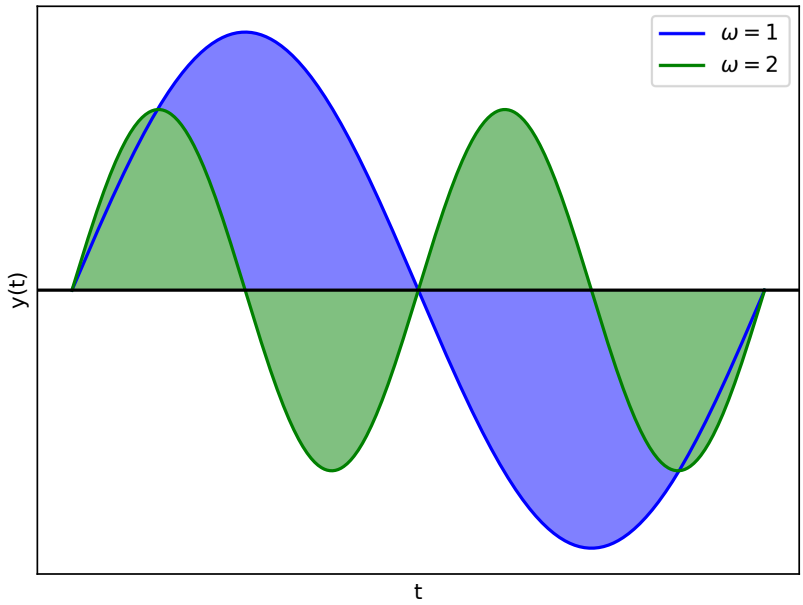



图 10：时域中不同频率正弦波的示意图。

Let 我们以波形为例，$\sin(\omega t)$如图所示：10，

$$\begin{aligned} Y(\xi) &= \int_0^{2\pi} y(t) \ e^{-2\pi i t\xi} \ dt \\ &= \int_0^{2\pi} \sin(\omega t) \ e^{-2\pi i t\xi} \ dt \\ &= \frac{1}{2i}\Big[\delta\big(\xi - \frac{\omega}{2\pi}\big) - \delta\big(\xi + \frac{\omega}{2\pi}\big)\Big] \end{aligned} \tag{3}$$

$$\begin{aligned} |Y(\xi)| &= \sqrt{\text{Re}(Y(\xi))^2 + \text{Im}(Y(\xi))^2} \\ &= \frac{1}{2}\Big[\delta\big(\xi - \frac{\omega}{2\pi}\big) - \delta\big(\xi + \frac{\omega}{2\pi}\big)\Big] \end{aligned} \tag{4}$$

$$|Y(\xi)| = \delta\big(\xi - \frac{\omega}{2\pi}\big) \tag{5}$$

随后即可计算平均频率：

$$
\begin{aligned}
f_{\text{mean}}(\omega) &= \frac{\int_0^\infty |Y(\xi)|^2 \ \xi \ d\xi}{\int_0^\infty |Y(\xi)|^2 \ d\xi} \\
&= \frac{\int_0^\infty \delta(\xi - \frac{\omega}{2\pi}) \ \xi \ d\xi}{\int_0^\infty \delta(\xi - \frac{\omega}{2\pi}) \ d\xi} \\
f_{\text{mean}}(\omega) &= \frac{\omega}{2\pi}
\end{aligned}
\tag{6}
$$

正如预期，我们得到的公式表明，平均频率与 $\omega$ 成正比。

### 三角波形

现在，我们可以考虑一种代表对称安培尖峰的波形，其上升和下降均为线性。三角波是一种周期性、分段线性且连续的实函数（也称为帽函数），如图11所示。

$$
y(t) = \begin{cases} 1 - \frac{|t|}{a}, & |t| \leq a \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases}
$$

按照上一小节所述的步骤，我们可以得出平均频率与三角形底边长度之间的关系：

$$
\begin{aligned}
\mathscr{F}(y(t)) &= \int_{-\infty}^{\infty} e^{-2\pi i \xi t} dt \\
&= \int_{-a}^{0} \left(1 + \frac{t}{a}\right) \ e^{-2\pi i \xi t} \ dt + \int_{0}^{a} \left(1 - \frac{t}{a}\right) \ e^{-2\pi i \xi t} \ dt \\
\mathscr{F}(y(t) &= a^2 \, \text{sinc}^2(a \ \xi)
\end{aligned}
\tag{7}
$$

$$
|y(\xi)| = 2a \, \text{sinc}^2(a\xi) \tag{8}
$$

平均频率，

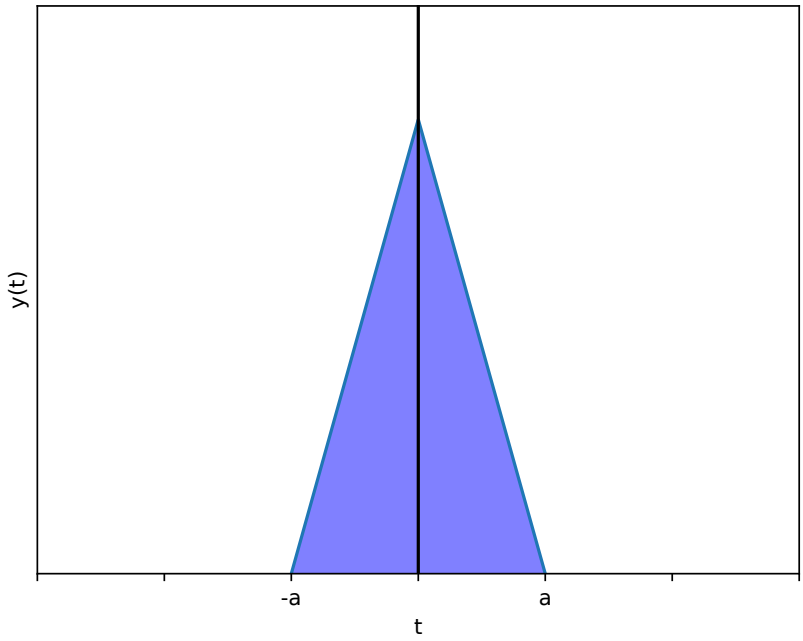



图11：示意　　时域中底边长度为 $2a$ 的对称帽函数　　.

$$
\begin{aligned}
f_{\text{mean}} &= \frac{\int_0^\infty |Y(\xi)|^2 \, \xi \, d\xi}{\int_0^\infty |Y(\xi)|^2 \, d\xi} \\
&= \frac{3}{a} \ln 2\pi
\end{aligned}
\tag{9}
$$

因此，我们可以看出，$a$ 越大，尖峰就越宽，因而其平均频率也越低，这与预期相符。

## Code

该频率分析软件包使用 Python3.2.0 实现，最新版本可从以下地址下载：https://github.com/krishnanj/SSFAAT。该软件包由四个模块组成，如图12所示。

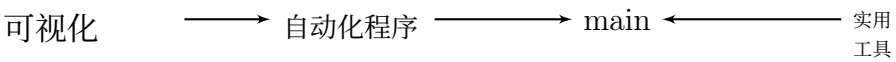



图 12：基于脉冲的频率分析包的结构。所有程序都会从参数模块中获取用户设置的参数。

主模块使用 utils 中定义的辅助函数，对每个类别进行逐脉冲平均频率评估。此外，它还会显示平均频率分布的可视化结果

。用户可以更改这些参数来分析自己的数据。raw_data_可视化模块会显示输入原始数据的可视化结果。

该参数模块定义了全局参数，例如原始数据、中间数据、采样频率和输出路径，这些内容如下图所示。13。

```
// 常规参数
类别数量_          # 类别或标签的数量
类别_列表          # 包含标签ID的字符串列表
路径_原始_类别     # 每个类别的原始数据路径
target_path_category # 写入包含
                     每个类别的尖峰特征的Excel表格路径

// FFT参数
f_samp                          # 采样频率

// 峰值检测参数
thrs                            # 峰值检测阈值

// 其他
排除项    _list   # 可疑数据的文件名列表
```

图 13：参数模块中需要用户干预的参数概览。

自动化模块根据预定义的阈值识别尖峰并提取

尖峰。程序流程概要以伪代码形式列示如下：

**算法1** 自动化模块执行峰值_检测_自动化方法，
使用用户输入，包括标签类别列表、原始数据路径、输出文件路径，以及
参数模块中设定的峰值阈值。

**过程** 峰值_检测_自动化(类别_列表，原始_路径_列表，tar-
获取_路径_列表，峰值_阈值)
**对于**类别中的每个类别 _列表 **执行**
原始_路径_类别 =原始_路径_列表[类别]
**对于**raw 中的每个文件 _路径_类别 **执行**
**如果** 数据文件不在排除 _列表 **则**
加载原始数据
根据前 30 个数据点求基线的标准差
根据峰值_阈值计算峰值；获取并存储峰值属性
**如果**存在峰值**则**
计算归一化截止位置并进行时间序列滤波
提取 t _最大值，I _起始值，I _尖峰的末端
确定 t _half，t_上升和 t _下降窗口
**结束 if**
将所有提取的尖峰参数写入目标文件 _path_列表并存储
**结束 if**
**结束 for**
**结束 for**
返回输出信号_file
**结束过程**

utils 模块包含用于快速傅里叶变换分析的辅助函数，并执行以下功能：1. 给定原始时间序列和采样频率，meanfreq 评估平均频率；2. 对于每个时间序列及其对应的某一类别的预计算特征性尖峰特征，analyze_meanfreq 会在给定的感兴趣窗口（例如 $t_{half}$ window）内评估每个尖峰事件的平均频率；3. 对于给定的模拟信号，analyze_meanfreq_artificial 会在给定的感兴趣窗口内评估每个尖峰的平均频率，并返回平均频率的中位数；4. resample 函数将每个尖峰从原始长度重采样为按某个因子缩放后的新长度；5. create_spike_train 会生成具有给定长度和采样频率的人工尖峰序列，其中尖峰几何形状在人工数据生成的补充章节中指定。下文将重点介绍此模块中的核心方法 analyze_meanfreq：

**算法 2** utils 模块使用用户输入执行 analyze_平均频率方法
包括原始数据目录路径和 Excel 表格路径。

**过程** analyze_平均频率(path_raw, path_excel)
初始化一个空的二维数组，用于写入均值_频率
**对于**path_raw 中的每个文件**执行**
从文件中读取时间序列
从路径读取尖峰参数 _Excel
读取每个尖峰感兴趣窗口的起始时间和结束时间，t _起始 和 t _end
将时间参数转换为数组索引，index_start 和 index_end
确定窗口 _每个尖峰的数据
**针对**每个提取的尖峰**执行**
执行 meanfreq(window_数据, f_samp) 方法
并存储到 mean_freq[file_index][spike_index]
**结束循环**
**结束循环**
返回均值_频率
**结束过程**

## 关于原始数据

表格总结了分析中使用的候选数据集的属性。1以下各小节将简要概述生成这些数据集所采用的流程：[32,33] 如下：

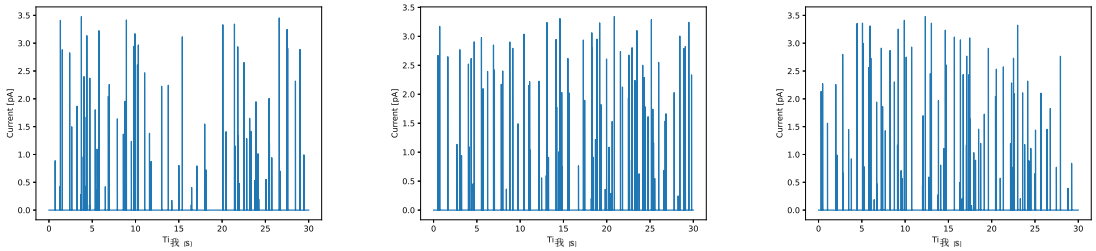
表1：候选数据集属性汇总

| 属性 | 霍夫迈斯特序列 | 电极 | DMSO |
|---|---|---|---|
| 方法 | SCA | VIEC | IVIEC |
| 细胞/囊泡类型 | 肾上腺嗜铬细胞 | 嗜铬囊泡-cles | 嗜铬细胞 |
| 条件 | $K^+$ 和阴离子刺激 | 浸渍法 | 对照 刺激处理，含 $Ba^{2+}$，此外孵育 with 0.6% 二甲基亚砜 |
| 类别 | 霍夫迈斯特离子 | 金、铂、碳 | 对照、二甲基亚砜 |
| 长度（秒） | $40-126$ | $105-1459$ | $795-1544$ |
| 采样频率（千赫兹） | 10 | 10 | 10 |
| 样本数 | 158 | 22 | 21 |
| 每类样本数 | • $Br^-$ - 26<br>• $Cl^-$ - 29<br>• $ClO_4^-$ - 30<br>• 否$^-_3$ 31<br>• $SCN^-$ - 27 | • 碳 - 4<br>• 铂 - 7<br>• 金 - 7 | • 对照 - 16<br>• 二甲基亚砜 - 21 |

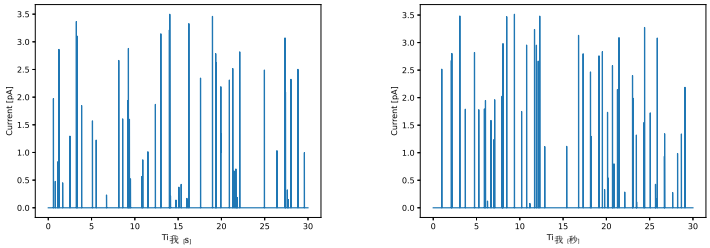
### 霍夫迈斯特系列数据集

牛肾上腺取自当地屠宰场，在整个实验过程中，细胞均置于$37°C$ 等渗溶液中。单个嗜铬细胞的电化学记录在法拉第笼中的倒置显微镜上进行。工作电极相对于银/氯化银参比电极保持在 $+700$mV，输出信号经2.1 kHz滤波后以5 kHz进行数字化。对于单细胞胞吐作用，

微盘电极由膜片钳微操纵器缓慢移动，将其放置在嗜铬细胞的细胞膜上，同时避免对表面造成任何损伤。记录开始十秒后，将玻璃微量移液管中的30 mM $K^+$ 刺激溶液通过一次持续30秒的注射脉冲注入嗜铬细胞周围。




(a) 尖峰序列 with $Br^-$ 刺激 (b) 尖峰序列 with $Cl^-$ 刺激 (c) 使用 $ClO_4^-$ 的尖峰序列刺激



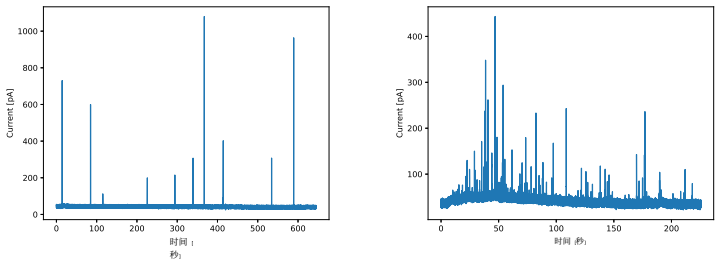

(d) 使用 $NO_3^-$ 的尖峰序列刺激 (e) $SCN^-$下的尖峰序列刺激

图 14：通过 SCA实验获得的不同离子刺激下嗜铬细胞的安培法曲线

**DMSO数据集**

通过酶消化从肾上腺髓质中分离牛嗜铬细胞，并将细胞保存在 $37°C$。在法拉第笼内，使用倒置显微镜对单细胞进行电化学记录。工作电极相对于银/氯化银参比电极保持在 $+700$ mV，输出信号使用贝塞尔滤波器以 2 kHz 进行滤波。进行细胞计量记录时，使用膜片钳微操纵器将纳米电极的尖端穿过细胞膜插入细胞内。进行胞吐实验时，将纳米尖端电极置于细胞顶部。每个细胞均通过微量移液管接受一次 2 mM $Ba^{2+}$ 刺激

持续 5 秒，微量移液管与显微注射系统相连。




(a) 尖峰序列 未进行DMSO孵育　(b) 含 DMSO 的尖峰序列孵育

图 15：通过 IVIEC 实验获得的对照条件（无 DMSO孵育）和 DMSO孵育条件下嗜铬细胞的安培法曲线

**电极数据集**

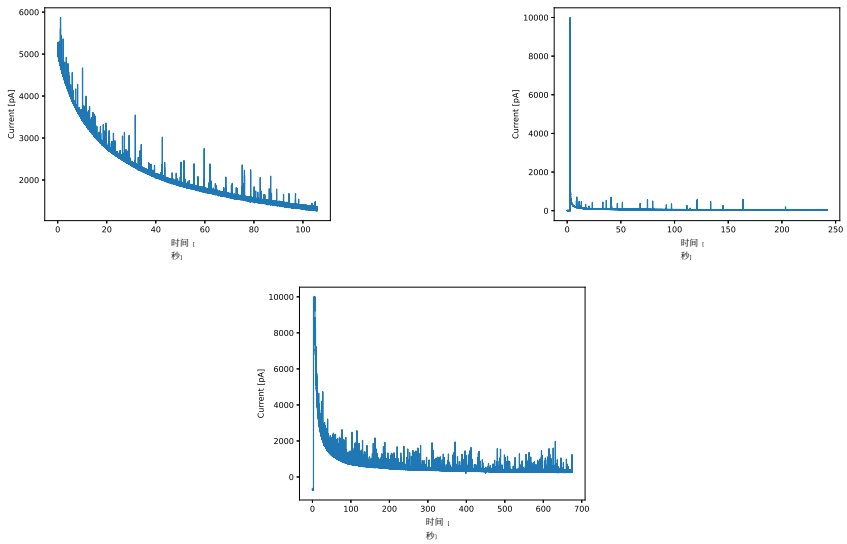



图 16：通过 VIEC 实验，在金（左上）、铂（下方）和碳（右上）圆盘微电极上记录的分离嗜铬囊泡安培法曲线，电位 E 为 $=+700$ 毫伏（相对于银/氯化银）。

牛肾上腺取自当地屠宰场，并置于冷的洛克缓冲液中运输。修整腺体周围的脂肪，并经肾上腺静脉用洛克溶液冲洗。用手术刀将髓质与皮质分离，随后在冰冷的匀浆缓冲液中进行机械匀浆。匀浆经离心

以 $1000\times$g 离心 10 分钟，以去除未裂解的细胞和细胞碎片。随后，将上清液再以 $10000\times$ g 离心 20 分钟，使囊泡沉淀。所有离心操作均在 $4$℃ 下进行。将最终得到的嗜铬囊泡沉淀重悬于匀浆缓冲液中并稀释，用于 VIEC 测量。

对于 VIEC 实验，首先将电极浸入囊泡悬液中，在 $4$℃ 下放置 30 分钟，随后置于匀浆缓冲液中，在 $37$℃ 下放置 20 分钟，以进行实验记录。测量期间，使用低电流恒电位仪（Axopatch 200B，Molecular Devices，美国加利福尼亚州桑尼维尔）向工作电极施加相对于银/氯化银参比电极为 $+700$mV 的恒定电位。输出信号经 4 极贝塞尔滤波器以 2 kHz 进行滤波，并使用 Digidata 1440A 型和 Axoscope 10.3 软件（Axon Instruments Inc.，美国加利福尼亚州桑尼维尔）以 10 kHz 进行数字化。

制备微电极时，将直径为 $33\ \mu m$ 的碳纤维吸入硼硅酸盐毛细管（1.2 mm $O$.D., 0.69 mm I.D.，Sutter Instrument Co., Novato, CA, U.S.A.）。随后使用微量移液管拉制器（Narishige Inc., London, U.K）拉制毛细管，并在玻璃接合处切断碳纤维。将拉制后的尖端浸入环氧树脂中，密封碳纤维与玻璃之间的间隙。将粘接好的电极放入烘箱中，于 $100$℃下过夜，以完成密封。使用 $45^\circ$ 角度对密封后的电极进行斜切（EG-400, Narishige Inc., London, U.K.）。采用类似的方法制备金和铂盘微电极。具体而言，将一段长1 cm、直径为125-$\mu-$m的金线或直径为100-$\mu-$m的铂线（Goodfellow, Cambridge Ltd. U.K.）插入拉制后的毛细管中；该金属线通过银浆与一段较长的导电线（10 cm银线）连接。随后同样使用环氧树脂密封，并以 $45^\circ$ 角度斜切。

## 人工数据生成

为检验我们针对霍夫迈斯特系列数据集提出的频率分析假设，我们按以下方式创建了一个人工数据集。首先，将人工数据集中的所有时间序列设定为固定长度300，000，即30 秒的记录时间，假设采样频率为10 kHz。对于每个尖峰序列，尖峰数量在 $[50, 100]$, 之间随机选取，并根据人工离子类型为每个尖峰随机设定宽度，即人工$\mathbf{Cl}^-$在 $[10, 20]$, 人工$\mathbf{Br}^-$在 $[20, 30]$, 人工$\mathbf{NO}_3^-$在 $[30, 40]$, 人工$\mathbf{ClO}_4-$ 在 $[40, 50]$,人工$\mathbf{SCN}^-$ 在 $[50, 60]$, 旨在模拟真实霍夫迈斯特系列数据集中的观测结果。与真实尖峰形状类似，人工尖峰由陡峭的线性上升段和指数衰减部分组成。最后，对每个尖峰序列进行快速傅里叶变换，并汇总统计结果，如图3所示。每个类别生成25 个时间序列。

# 参考文献

(1) Wrenn, K. 过去与现在。《内科学年鉴》**2003**，*138*，847。

(2) Liu, X.; Tong, Y.; Fang, P. P. 囊泡胞吐安培测量的最新进展。《*TrAC*：分析化学趋势》**2019年**，*113*，13–24。

(3) Colliver, T. L.; Hess, E. J.; Pothos, E. N.; Sulzer, D.; Ewing, A. G. 对两组细胞记录到的安培尖峰形状进行定量和统计分析。**2000**，

(4) Segura, F.; Brioso, M. A.; Gómez, J. F.; Machado, J. D.; Borges, R. 胞吐作用安培记录的自动分析。《神经科学方法杂志》**2000**，*103*，151–156。

(5) Mosharov, E. V.; Sulzer, D. 对安培法记录的胞吐事件进行分析。《自然·方法》**2005年**，*2*，651–658。

(6) Lemaître, F.; Guille Collignon, M.; Amatore. 胞吐的电化学检测的最新进展。《电化学学报》2014, 140, 457–466.

(7) Wightman, R. M.; Jankowski, J. A.; Kennedy, R. T.; Kawagoe, K. T.; Schroeder, T. J.; Leszczyszyn, D. J.; Near, J. A.; Diliberto, E. J.; Viveros, O. H. 时间分辨的儿茶酚胺尖峰对应于单个嗜铬细胞释放的单个囊泡。《美国国家科学院院刊》1991, 88, 10754–10758.

(8) Phan, N. T. N.; Li, X.; Ewing, A. G. 利用细胞电化学和纳米尺度分子成像测量突触囊泡。《自然综述：化学》2017,1, 0048.

(9) Li, X.; Dunevall, J.; Ewing, A. G. 通过电化学细胞计量法对囊泡递质进行定量化学测量。《化学研究述评》**2016年**，*49*，2347–2354。

(10) Dunevall, J.; Fathali, H.; Najafinobar, N.; Lovric, J.; Wigström, J.; Cans, A. S.; Ew- ing, A. G. 通过电极上的碰撞吸附事件表征单个哺乳动物囊泡中的儿茶酚胺含量。美国化学会志**2015年**，*137*，4344–4346。

(11) Li, X.; Majdi, S.; Dunevall, J.; Fathali, H.; Ewing, A. G. 使用纳米尖端电极定量测量单细胞细胞质中单个囊泡内的递质。《应用化学》国际版 **2015年**, *54*, 11978–11982.

(12) Ren, L.; Mellander, L. J.; Keighron, J.; Cans, A.; Kurczy, M. E.; Svir, I.; Oleinick, A.; Amatore, C.; Ewing, A. G. 开放式和闭合式胞吐作用是主要释放机制的证据。《生物物理学季评》 **2016年**,*49*, 1–27.

(13) Larsson, A.; Majdi, S.; Oleinick, A.; Svir, I.; Dunevall, J.; Amatore, C.; Ewing, A. G. 细胞内电化学纳米测量揭示，活神经元中的分子胞吐作用具有亚量子性且过程复杂。《应用化学》国际版 **2020年**,*59*, 6711–6714.

(14) Wang, Y.; Ewing, A. 对单个活细胞囊泡中神经递质的电化学定量表明，胞吐作用主要是不完全的。《*ChemBioChem*》**2021年**,*22*, 807–813.

(15) Steven M. Singer, Marc Y. Fink, V. V. A. 囊泡撞击电化学细胞计量法与安培法胞吐测量的比较。《生理学与行为》**2019年**, *176*, 139–148.

(16) Wacker, M.; Witte, H. 生物医学信号分析中的时频技术：相似性与差异性的教程式综述。《医学信息方法》**2013年**,*52*, 279–296.

(17) Evanko, D. 入门：用安培法观察胞吐作用。《自然·方法》**2005年**, *2*, 650.

(18) Cooley, J. W.; Tukey, J. W. 复傅里叶级数机器计算算法。《计算数学》**1965**,*19*, 297–301. (19) RN, B. 傅里叶变换及其应用。《计算数学》**1999**, (20) Brigham, E. O.; Morrow, R. E. 快速傅里叶变换。《*IEEE Spectrum*》**1967**, *4*, 63–70. (21) Cohen, L. 时频分布综述。《*IEEE*会议录》**1989**, *77*, 941–981. (22) Cooley, J.; Lewis, P.; Welch, P. 快速傅里叶变换历史札记。*IEEE*会议录**1967**, *55*, 1675–1677. (23) 快速傅里叶变换及其应用。《*IEEE*教育汇刊》**1969**, *12*, 27–34. (24) Letelier, J. C.; Weber, P. P. 基于离散小波变换系数的尖峰分类。《神经科学方法杂志》**2000**, *101*, 93–106. (25) Stankovic, L. 一种时频分析方法。**1994**, *42*, 0–4. (26) L. E. Alsop, A. A. N. 更快速的傅里叶分析。《地球物理研究杂志》**1966**,*71*, 5482–5483. (27) Heitler, W. J. DataView：用于数据分析的教程工具。基于模板的尖峰分类与频率分析。《本科神经科学教育杂志》**2007**, *6*, 1– 7. (28) Mikheev, P. A. 将快速傅里叶变换应用于计算裁剪卷积。《数学报告》**2015年**, *92*, 630–633. (29) A., P. 傅里叶积分及其应用; 纽约：麦格劳-希尔，1962。

(30) 从神经元培养物中钙成像信号的谱分析识别神经元网络性质。《神经回路前沿》**2013年**，*7*，1–16。

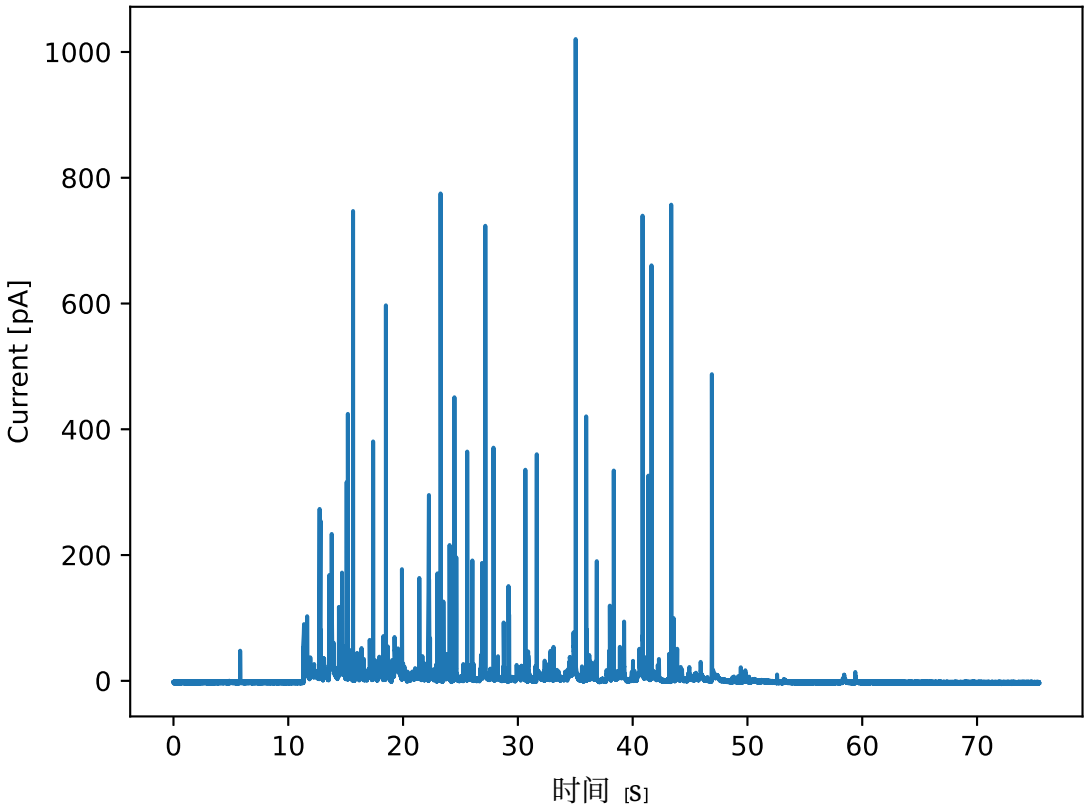
(31) Ruffinatti, F. A.; Lovisolo, D.; Distasi, C.; Ariano, P.; Erriquez, J.; Ferraro, M. 钙信号：时域和频域分析。《神经科学方法杂志》**2011年**，*199*，310–320。

(32) He, X.; Ewing, A. G. 反离子沿霍夫迈斯特序列改变胞吐作用参数。

(33) Majdi, S.; Najafinobar, N.; Dunevall, J.; Lovric, J.; Ewing, A. G. 二甲基亚砜通过化学作用改变细胞膜，减缓胞吐作用并增加部分递质释放的比例。《*ChemBioChem*》**2017年**，*18*，1898–1902。

（34）Coifman, R. R.; Meyer, Y.; Wickerhauser, V. 小波分析与信号处理。载于《小波及其应用》。1992年；第153–178页。

（35）Pavlov, A. N.; Hramov, A. E.; Koronovskii, A. A.; Sitnikova, E. Y.; Makarov, V. A.; Ovchinnikov, A. A. 神经动力学中的小波分析。*Physics-Uspekhi* **2012**，*55*，845–875。


1000
800
600
400
200
0
Current [pA]
0
10
20
30
40
50
60
70
时间 [s]