

## 課題② 画像処理方法の演習

この実習課題では、この課題専用の USB メモリー内にある「[YLMYImageYindex.html](#)」を起動させてから作業します。インターネットに接続されたコンピュータの場合、以下の web サイトへ接続することでも同じ作業を実施できます。課題の中では、ダウンロードする画像が指定されています。それらの画像ファイル（名称を確認）を、各自のコンピュータにダウンロードしながら、作業を進めます。

[http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/ImageJ\\_ex3.pdf](http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/ImageJ_ex3.pdf)


☆この作業は、必ずしも実習室で行う必要はありませんが、コンピュータに画像解析ソフト **Image J** がインストールされていることが必要になります。それには、以下の2つの方法があります。ただし、実習室以外で実施する場合でも、出欠を取るために、実習開始の時点で指定された教室に集合します。

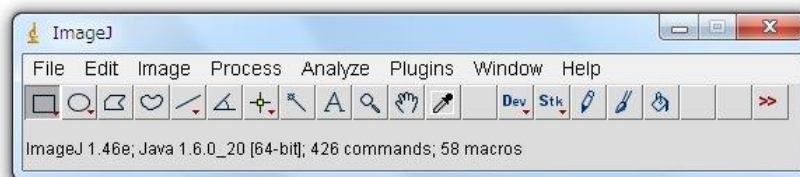
- ・手持ちのコンピュータに **Image J** をインストールし、用いる。  
または、
- ・手持ちの USB メモリーに **Image J** をインストールし、USB 上から起動する。

☆ **Image J** は、フリーソフトです。<http://imagej.nih.gov/ij/> から OS を選んでダウンロードできます。インターネットにつながったコンピュータを使って以下の作業を実施します。

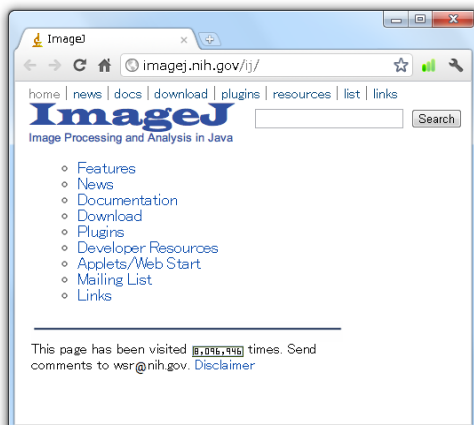
- ・上記アドレスより、**Image J** をダウンロードし、指示（英語表記）に従ってインストールします。インストール先は、各自の管理するマイドキュメントフォルダ、あるいは、パブリックフォルダ内の任意の場所です。大学の IT センターのコンピュータにはインストールできませんので、USB メモリー上で使用するようにします（用いる PC が 32bit か、64bit かでインストールするソフトが異なるので要注意）。



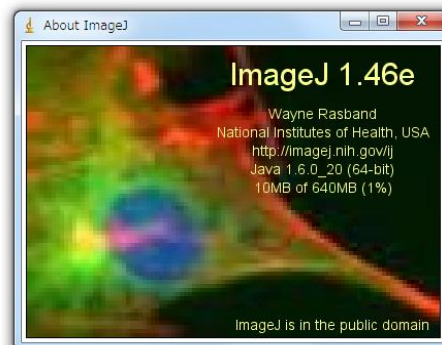
- ・インストール時に作成された  の印のアイコンをクリックして、プログラムを開始します。
- ・下のようなツールバー（通常は画面右上）が表示されたら、実行可能な状態です。



ダウンロードサイトのページ



バージョン情報（64bit 用）

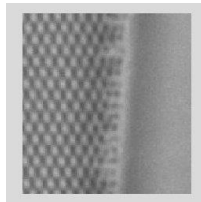


## \* はじめに \*

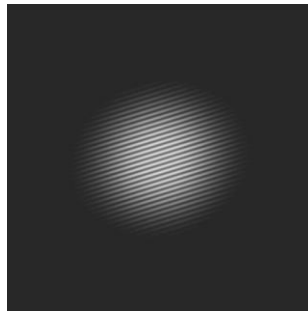
アップル社コンピュータ対応の画像処理ソフトとして開発された NIH Image は、その後、Windows 版に対応した Scion Image や Image J として改良されて来ています。フリーのソフト（米国、NIH<sup>#</sup>提供）で、多くの研究者が多様な使い方をしており、画像計測や画像処理のための豊富な付加機能も提供されているのが特徴です。32-bit の画像データまで取り扱うことができます。ここでは、この Image J を使って、画像処理法の概要を演習します。<Q2-1 ~>は、質問や考察する事項ですが、レポートには、その番号と解答を順に記載します。  
**(注：# は巻末の用語集参照)**

この演習では以下の画像データを使用します。(ア) ~ (ウ) の写真上でクリックして大きな画面を表示させた後に、右クリック（配布した USB メモリー内のフォルダから表示）して、適宜、各自のコンピュータの任意のフォルダにダウンロードして用います。

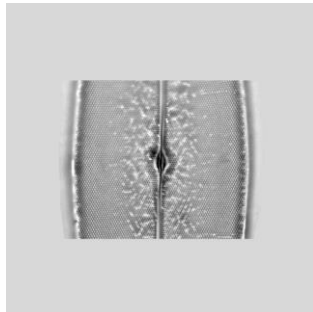
(ア) *Pleurosigma* part (ファイル名：[Pleurosigma\\_part.jpg](#))



(イ) SinePattern (ファイル名：[SinePattern.bmp](#))



(ウ) *Pleurosigma* (ファイル名：[Pleurosigma\\_b.bmp](#))



## (i) 基礎操作法の練習

1. 画像の読み込みと書き出し：上の（ア）の画像（ファイル名：[Pleurosigma\\_part.jpg](#)、ケイ藻細胞の光学顕微鏡写真、奥修博士提供）を開きます。「File」→「Save as」→「Text image...」でファイル名を指定すると、ここで表示されている画像の輝度データ#を、エクセルなどで読めるテキストデータとして出力できます。Jpeg ファイル（JPEG 形式#）の画像は、8 ビット#（256 階調#）で記録されているので、ここで出力したデータも、0~255 の間の整数値（輝度データ#）として出力されます。この機能を使って、画像⇒数値データの変換が自在にできることになります。逆の数値データ⇒画像の変換は「File」→「Import」→「Text image...」です（注：カラーの画像の場合、この作業で記録できるものは、輝度を示す数値だけですので、逆の作業を行うと白黒の画像となる）。
2. 次に、ここで書き出したテキストデータのファイルを Excel で読み込んでみます。その中で、例えば 16 番目の列（P 列）のデータをグラフ表示させると、画像の輝度データ#がどのように変化しているかがわかります。さらに、その輝度変化の変動周期（一周期）は、ピクセル数（画像の最小単位）で、およそ、どの程度になるか、わかります。このような方法で繰り返しの縞模様の周期（グラフの頂点と頂点の間の距離）を簡便に調べることができます。
3. 上のような数値を正確に出すには、前回の実習「課題②(iii)-5」で修得した、「Straight line selection」を使って、観察したい方向を決め輝度データ#を読み込む方法、あるいは、単純にマウスで、位置を指定して、その座標を読み取って計算する方法などがあります。
4. 画像の明るさ・コントラストの調整：画像が暗いときや鮮明に見えないときは、「Image」→「Adjust」→「Brightness/Contrast」で調節することができます（「Auto」のクリックなどで変わることを確認）。Brightness とは、全体の明るさです。Contrast（コントラスト#）は、もっとも明るい点と暗い点との間の明るさの差に相当します。注意しなければならないのは、この操作で変化するのは、単に PC 上での表示形式だけという点です。もとの画像データ（256 階調#のデータ）にない情報は、どんなに輝度やコントラストを変化させても、あたらしく見えてくることはありません。最初に像を撮影したときの条件で、どのような顕微鏡写真を撮影したかで、すべてが決まります。8-bit の輝度データ#のために、コントラストが高すぎると、ざらざらした感触の画像となり、詳細が見えにくくなります。
5. 画像の回転、反転、擬似カラー表示などの加工：回転は「Image」→「Rotate」、反転は「Edit」→「Invert」、擬似カラー表示は「Image」→「Lookup Tables」で選択し変えることができます。これも、表示方法の変更だけの意味しかありません。表現したい箇所を強調するときを使用します。回転作業は、肉眼ではよくはわかりませんが、ピクセルの間の補間処理#（ピクセルの間のデータを計算で予測する作業）を行いますので、実際は情報量として減少する方向にあります。
6. 画像のエッジを抽出する方法①：上の（ウ）の画像（ファイル名：[Pleurosigma\\_b.bmp](#)）を開き、「Process」→「Enhance Contrast」の操作を行います。これによって、自動的にコントラストを増強させ、見やすくする加工を行います。
7. 画像のエッジを抽出する方法②：上と同じファイルを新しく開き、「Image」→「Duplicate」で同じ画像を別の名称で複製します。この操作で、「Pleurosigma\_s-1.bmp」という別の名前の画像が自動的に作られます。2つある画像の中で、片方を、「Process」→「Filters」→「Gaussian Blur (radius 5-10

程度)」で処理します。**Radius** は処理の程度を示すパラメータですが、ここでは詳細の説明は省きます。この操作で、人工的にボケさせた画像を作ることができます。この処理の次の操作に移ります。

8. 「Process」→「Image Calculator」で「Operation」を「Subtract」に選択した後に、上のボケ処理を行う前と後の2つの画像の間で減算処理（輝度データ<sup>#</sup>の差を計算）を行うことができます（注：それぞれのファイル名を間違えない様にして演算する）。もちろん、同じ画像から同じ画像を減算処理すると真っ暗な画像になります。また、処理のあとで、うまく表示できていなかったり、暗い像だったりしたら、上の(4)と同じ作業で、適切な明るさやコントラストを選択し、見やすくします。この減算処理によって、もともとの画像にある明るすぎる部分をキャンセルして暗くすることが可能になります。その結果、他の微妙なコントラストの部分を強く強調して、明瞭に表示させる効果が出てきます。微細な構造を表示するときには特に効果的です。これもコントラストをあげて、見やすくするだけの加工です。もとの画像の輝度データ<sup>#</sup>にないものが、新しく見えてくる訳ではありません。
9. このような画像処理で守らなければならない重要なルールがあります。顕微鏡の画像は、様々な処理操作をおこなう場合には、最初のオリジナルの画像全領域とコントロール<sup>#</sup>となる実験データの両方に、まったく同じ処理を実施する必要があります。観察者にとって都合の良いような、画像の一部の処理、強調したい箇所だけを見やすくしたり、逆に、見せたくない箇所を削除したりするような操作は、このソフトを用いれば容易に実施することができます。しかし、このような加工作業は真実をゆがめて伝えることに相当し、行ってはいけない捏造行為となります。もし、様々な画像処理を実施した場合、どのような処理を行ったか実験レポートには正確に記述します。

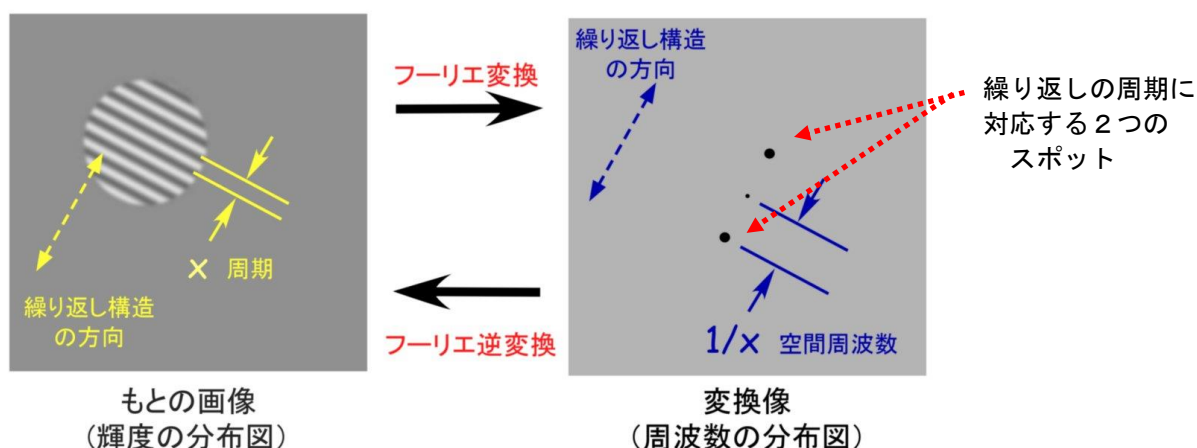
## (ii) 画像フーリエ変換

これまでの操作で、Image J 中の簡単な操作方法を学習しました。実際の機能はさらに多種・多様で、学習や研究の上で、より使いやすい機能に関連 web サイトから見つけることもできます。この節では、2次元のフーリエ変換の演習を行います。まず、上の(イ)からリンクされている画像（ファイル名：[SinePattern.bmp](#)）を開き、以下の操作を行います（開く方法は、A-17 ページ参照）。これまでに開いている他の画像がある場合、それらはすべて閉じ、以下の作業に移ります。

1. **2次元フーリエ変換の操作**：「Process」→「FFT」→「FFT」と順番に実施します。ここで開いた画像は、一定の周期で明暗が変化する単純な縞模様です。上の操作によって、別の新しい画像（**FFT of SinePattern.bmp**と名前が付いている画像）が作られるのがわかります。これは、SinePattern.bmp 中の周期的な模様を解析して、2次元のマップとして表現したものです。周期は縞模様の間隔ですが、その逆数は単位長さあたりの縞の数に相当し、これを空間周波数<sup>#</sup>といいます。音の周波数とその逆数の波長の関係と同じです。こうやって作った空間周波数のマップを **FFT 画像**（フーリエ変換後の画像、FFT は Fast Fourier Transform の略です）と呼びます。このような操作を2次元画像の **FFT 変換**、あるいは、**FFT 処理**と呼びます。FFT 変換とは何でしょうか？実際の作業の意味を理解する目的で、次の操作を行います。
2. **FFT 画像が「active」になっているのを確認して次の作業を実施します。** Image J のメニューの中で丸印のツールアイコン（**Elliptical or brush selections**）をまず選びます。次に FFT 画像の中にある中で、明るいスポット部分（中心以外にあるものの中からまず一つ選ぶ）をカーソルで小さく囲み（マウス

のドラッグ作業)、「Edit」→「Cut」(又は、Ctrl+X)の操作で、この部分を削除します。この操作で、FFT 画像の中にある一部の輝度データ<sup>#</sup>が、完全に消去されたこととなります。消去する場合、画面の中心を挟んでちょうど反対側にある対称な位置にあるスポットも、必ず同じように消去処理するようにします。この操作で、FFT 画像の中にある一部の情報が欠落したものを人工的に作ることができます。その欠落した情報とは、何でしょうか?次に示す FFT 処理と逆の処理(逆変換)を行うとわかります。

3. FFT 処理した画像が選択されて active になっている(処理対象の対象画像として選択されている)ことを確認し、Ctrl+A(全画面が選択される)を押した後に、「Process」→「FFT」→「Inverse FFT」を実施します。新しい画像が現れますが、「Image」→「Adjust」→「Brightness/Contrast」で適度にコントラストと明るさを再調整して画像を表示させます。この操作は、上の操作(1)のまったく逆の計算を行うものです。計算の結果、別の画像(フーリエ逆変換像、Inverse FFT of SinePattern.bmp と名前が付いている画像)が表示されます。ここで新しく作られる画像は、もとの画像から、上の(2)の操作で情報を削除した残りに相当します。どの部分が欠落しているのでしょうか<Q2-1>?同じように、FFT 画像の中の他のスポットも追加して削除するとどうなるのでしょうか?得られた観察結果から、「FFT 画像上のスポットを削除する作業」とは何を意味するか推測し、レポートに記述します。これは、以下の「空間周波数<sup>#</sup>」を正しく理解することにつながります。
4. FFT 画像の中の1つのスポットは、元の画像の上に周期的な模様(繰り返し構造)があることを示しています。つまり、もとの画像の上では、その中心から、そのスポットの方向に向かって、中心からの距離の逆数を周期とする繰り返し模様が存在することを意味しています。数学的には複雑な式で表現されますが、プリズムに白色光を通すとスペクトル(光の波長、周波数の逆数)に分けられるのと同じ様に、FFT 変換は、画像の中の縞模様(周波数の逆数)の分布を調べる正確で便利な計算方法です。1次元ではなく、2次元なので、少し複雑にはなります。FFT 画像の中心からの距離が周期の逆数なので、これを「空間周波数<sup>#</sup>」と呼びます。中心により近いスポットは、より長い周期(低い空間周波数、大まかな構造や荒い模様)のパターンを、中心からより離れた点は、より短い周期(高い空間周波数、小さい構造や微細な模様)のパターンを反映しています。

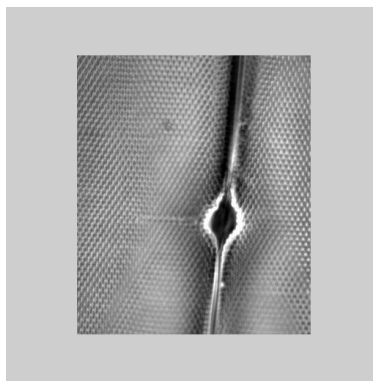


5. 上の(ウ)の画像(ファイル名: [Pleurosigma\\_b.bmp](#))を新しく開きます。同じように FFT 処理します。現れた代表的なスポット像(FFT 画像)を使って、上の操作(2)→(3)の操作を行います。元の画像にはどのような変化が生じますか。違いがわかりにくい場合、上の基礎操作練習(i)-7~8の操作で、処理前後の差を調べると明瞭にわかります(画像のわずかな差を見るときは、画像のコントラストや明るさを適宜調節して見やすくします)。その結果をもとに、このケイソウの細胞壁にはどの方向へ

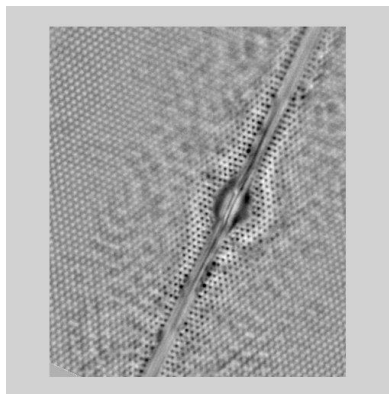
どのような周期の繰り返し模様があると言えるか考察します<Q2-2>。考察した結果をレポートに記述します。

6. 上の基礎演習(i)-7では、2つの画像（ボケさせた画像とエッジを抽出した画像）を使いました。それぞれに、同様のFFT処理を行います。FFT処理した画像の上では、2つには、どのような違いがあるでしょうか？<レポート記載不要>
7. 次の2つの画像、(エ)と(オ)は、ケイソウ *Pleurosigma* を、異なる照明条件下で観察した結果を示しています。この場合、もとの細胞の構造は、ほぼ同じのはずですが、観察方法の違いによって、見える像が変わって来ます。観察像の上でどのような違いがあるでしょうか<Q2-3>？それぞれFFT画像変換の手法を作って比較し、そこから推察できることをレポートに記述します。

(エ) 暗視野照明条件下で観察したケイソウ ([http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/Image/Plurosigma\\_DM00.jpg](http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/Image/Plurosigma_DM00.jpg))



(オ) 光学顕微鏡写真 ([http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/Image/Plurosigma\\_LM00.jpg](http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/Image/Plurosigma_LM00.jpg))



#### その他の便利な画像処理コマンド

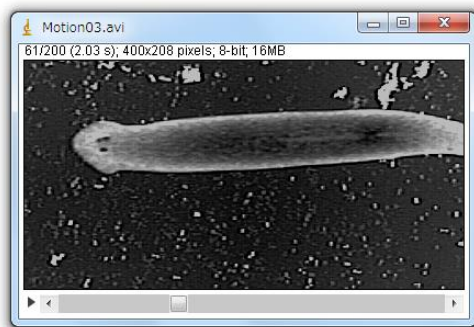
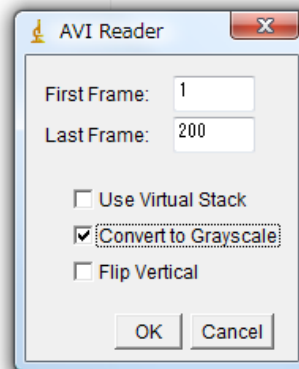
- 「Analyze」 → 「Measure」：面積、長さ、最大最小輝度などの表示
- 「Image」 → 「Adjust」 → 「Size」：画像の拡大・縮小
- 「Image」 → 「Cut, Copy, Invert ....」：画像のカット・コピー・反転・拡大・縮小など
- 「Process」 → 「Image Calculator」：画像データ間の四則演算
- 「Process」 → 「Math」：画像輝度データへの四則演算
- 「Process」 → 「Smooth, Enhance Contrast, Sharpen, Noise ...」  
：画像の円滑化・コントラスト増強・エッジ強調など
- 「Plugins」 → 「Macro」：同じ様な繰り返し作業の記録、再生、作業の読み込みなど

参考サイト [http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/Image/ImageJ\\_ex2.html](http://www.bio.chuo-u.ac.jp/nano/LM/Image/ImageJ_ex2.html)

### (iii) 動画の解析

Image J は、\*.AVI 形式<sup>#</sup>で保存された動画の処理機能も豊富に備わっています。ここでは、動画から輝度データ<sup>#</sup>を読み取り、その時間的な変化を調べる例を演習します。この方法は、課題④で応用する重要な技術です。動画は、複数の静止画像からできていて、その1つ1つをフレーム (Frame) と呼びます。

ここで用いるファイルは下の動画です。動物 (プラナリア) が右から左へと移動する様子が観察されています。まず、ダウンロードして、各自のコンピュータに保存します。その後、Image J で「File」→「Import」→「AVI...」で読み込んで使います (右図で「OK」をクリック)。全部で 200 フレーム (動画の画像の枚数) のファイルです。コンピュータの性能上、この程度の枚数 (フレーム数) の動画が扱いやすい枚数です。非常に長いビデオ記録はコンピュータの負担を軽減するために、短い一部だけにして読み込むことを推奨します (First Frame と Last Frame で指定する)。右に示すように、'Convert to Grayscale'を☑として操作するとコンピュータへの負担は小さくなります。




[Image/Motion03.avi](#)

(注: 右クリックで、動画を保存します。画面の左右幅は 30 mm、記録速度 15 frames/秒の動画記録)





1. 動画の表示: 「Image」→「Stacks」→「Tools」→「Start Animation」によって動画の表示が始まります (または、▶のクリック)。動画は、2次元の静止画像 (xy 面の 2次元データ) が、z 方向 (時間軸の方向) へ順番に積み重なるようにして並んでいるものと見なせます。積み重なったものなので、ここでは「Stacks」とよびます。動画は、x/y/t の 3 軸の 3 次元的な情報という考え方です。画像の下の■を左右にスライド操作してもアニメーションの表示ができます。アニメーションの表示は画像の上でクリックすると停止します。
2. 時間軸方向への投影: 動画を active にしたあとで「Image」→「Stacks」→「Z Project」によって、全時間の輝度データ<sup>#</sup>をすべて重ねて表示します。これは xy 面の像を z 軸 (時間軸) 方向へすべて投影して重ねたものに相当します。この操作を少し応用すると画像の加算平均 (動画でなく静止画としてビデオ撮影してから) し画質を改善する操作へと応用も可能です (下記手順)。

(Frame 加算平均による静止画の画質改善方法)

- a. 観察したい動きのないものを選び、動画 (Avi 形式) として記録・保存します。その後、ImageJ で 8bit-Stacks 画像として読み込みます。これを 32bit-Stacks に変換します (「Image」→「Type」→「32-bit」)。撮影した画像の内容や表示はまったく変化しませんが、256 階調<sup>#</sup>の輝度データ<sup>#</sup>

を、32-bit = 4,294,967,295 階調<sup>#</sup>まで、表示可能な枠を広げるための宣言です。ここで 32-bit に変換できるものは、白黒の画像のみです。処理中に警告が出てきたら、はじめの AVI 動画を読み込むときに  Convert to Grayscale (白黒画像) の設定で読み込むようにします。

- b. 「Image」→「Stacks」→「Z Project」で、画像を重ねますが、このとき、Projection Type で、Sum Slices を選択します (Sum Slices を選ぶと、場合によっては自動的に 32-bit 画像になります)。この作業で、全画像が加算されて新しい画像が作られます。時間軸方向への合計算を行ったことになります (加算平均すると画像の標準誤差が減少します。添付資料:「実習に役立つ統計学入門 ①」を参照)。この操作で、非常にキメの細かい画像 (情報量の多い画像) となります。課題①の (iii) 画像表示用ソフトの基本操作-4 の操作、「Analyze」→「Histogram」を使えば、処理した画像の中で、輝度データ<sup>#</sup>がどのように分布しているかがわかります (8bit は 0~2<sup>8</sup>の間、32-bit は 0~2<sup>32</sup>の間)。

3. データの時間変化を見る①: メニュー上の Rectangular selections (マーク)、あるいは Point selections (マーク) を使って、まず、解析したい領域や点を選択します。その後、「Image」→「Stacks」→「Plot Z-axis Profile」と順番に実施すると、指定した場所の輝度データ<sup>#</sup>の経時変化がグラフで表示されます (操作を繰り返す場合、前のグラフ表示を消去)。次に、メニュー上の Straight line selections (マーク) を使って、まず、解析した位置に 1 本の線を選択します。その後、「Image」→「Stacks」→「Reslice」と順番に実施すると、指定した直線に沿った輝度データ<sup>#</sup>がどのように時間変化するか画像が表示されます。これは、動画を x/y/t の 3 次元画像 (z 方向が時間に相当) と考えた場合に、その x/y のいずれかの軸を時間軸に置き換えて眺めたものと同じになります。「Reslice」とは ImageJ 独特の造語ですが、3D の立体的なものを、x/t や y/t などの他の面で切り取る操作に相当します。なかなか難しそうな概念ですが、四角い模型など手にとって考えると簡単です (A-25 参照)。直線を描いた後で、「Analyze」→「Plot Profile」でグラフ表示させ、動画表示を開始させると、刻々とグラフ表示が変化することがわかります。この数値データに相当するものを、輝度データ<sup>#</sup>として表現したものが、上の「Reslice」で作成した画像になります。
4. 上の方法によって、プラナリアの運動の速度が解析できます。まず、Straight line selections (マーク) を使って、動物の運動する方向に沿って線を描きます。その後で「Reslice」操作すると、下のよ



5. このような表示を一般にカイモグラフ表示 (キモグラフ表示) <sup>#</sup>とよびます。このようなカイモグラフ表示画像から動物の運動速度を求めるには、どのようにしたら良いでしょうか? もとの画像の横幅 (30 mm) と記録速度 (毎秒 15 コマ、15 fps) の値を使ってプラナリアの移動速度を計算しなさい。<Q2-4>この手法は、タマネギの細胞の中の顆粒輸送運動の解析に、そのまま直接応用できます (後述)。



### その他の便利な動画処理コマンド

- 「Image」 → 「Stacks」 → 「Plot Z-axis Profile」 : 輝度の時間経過をグラフ表示 (領域を限定することも可能)
- 「Image」 → 「Stacks」 → 「Make Montage」 : 全画面を並べて表示
- 「Image」 → 「Tools」 → 「Reduce」 / 「Combine」 / 「Concatenate」 / 「Reverse」 : 動画の画面数を減らす / 2つを上下左右で合体させる / 2つの動画を連続してつなぐ / 逆方向に並べかえる
- 「Process」 → 「Subtract Background」 : 背景画像を計算して、全画像から引き算する (背景のノイズを減らす)
- Line 選択後 「Analyze」 → 「Plot Profile」 → Live キーを on : 動画の輝度の時間変化を動画で表示
- Rectangular で領域選択後 「Analyze」 → 「Surface Plot」 : 選んだ領域の輝度分布マップの時間変化を動画で表示
- 「Plugins」 → 「3D」 → 「3D Viewer」 : 3D 画像と見なして、縦横自由に回転させて見る機能



## 用語解説（#の印のある語句の説明）

- 8ビット画像 (8-bit image)** : 明暗の強さを、 $2^8 = 256$  段階の数値データとして表現した画像。Windows 上の一般的な写真や画像のデータ (jpeg、gif、bmp など) は、8bit 画像 (カラーの場合、RGB (Red/Green/Blue) の3色がそれぞれが 8-bit) で扱われることが多い。
- AVI (avi) 形式 (AVI format)** : 一般的な windows 版での動画フォーマット形式。各コマが 8-bit 画像データとなっている。
- BMP (bmp) 形式 (BMP format)** : マイクソフト社/IBM が最初に提唱した画像保存形式。8-bit 画像データ。
- CCD カメラ (CCD camera)** : 光を受けて発生した電荷を受光素子に蓄積した後、順番に読み取る形式で画像を得る方式のカメラ。一般的なデジカメの受光素子として使われている。
- JPEG (jpeg) 形式 (JPEG format)** : 圧縮して画像を保存するときの一般的なフォーマット方式。画像をフーリエ変換に似た操作を行って保存するが、この方法で保存すると元の情報の一部が失われるので、完全には再現できない (非可逆的な圧縮) 点は要注意。重要な実験データを保存するときは使わない方が良い。
- NIH (NIH)** : 米国の厚生省に相当する組織の下にある研究機関。
- Tiff 形式 (Tiff format)** : 8~32bit 画像を保存する一般的なフォーマット。動画保存も可能であり、元の情報が正確に再現できる点で優れている。
- USB カメラ (USA camera)** : コンピュータに USB ケーブル経由で画像を送信するデジタルカメラの一般名称。
- 暗視野照明 (darkfield illumination microscope)** : 観察する試料からの散乱・屈折される光 (ミー散乱と言う) のみを使って拡大像を得る顕微鏡。像の輝度は低い、高いコントラストの観察像となる。
- 位相差顕微鏡 (phase-contrast microscope)** : 観察する試料と背景との屈折率差を明暗差に変えて観察できるしくみの顕微鏡。像の輝度・コントラストともに高い。人工的に発生させた陰影・コントラストである点は、間違った解釈をしないようにしなければならない。暗く見えるところに、いつも物質が集積している訳ではないため。
- 解像度 (resolution)** : 画像の細かさを表現する指標で、一定間隔に何本の線や点が存在するか (空間周波数) で表現したもの。下の分解能の逆数に相当する。
- 階調 (gradation, gray level)** : 画像の明暗値 (デジタル値) を示す段階の数。8ビットは  $2^8 = 256$  階調、12ビットは  $2^{12} = 4096$  階調、32ビットは  $2^{32} = 4,294,967,296$  階調に相当。
- カイモグラフ (kymograph)** : 動画の中で、ある決まった線上のデータを抽出し、これを Y 軸、時間軸 (コマ数) を X 軸として並べ直した二次元表示の画像データ。
- 輝度データ (brightness)** : 画像の中の各ピクセルの明暗を数値データで示したもの。
- 空間周波数 (spatial frequency)** : 単位距離内に何本の線や点が存在するかを示す指標。
- ケイソウ (diatom)** : 細胞壁に種ごとに決まった模様や周期のパターンを持つのが特徴の藻類。光学顕微鏡の性能を確認するための試料として古くから使われて来た。
- コンデンサ絞り (aperture stop, condenser stop)** : コンデンサと照明ランプの間にある絞り。顕微鏡を通過する光の広がり角 (光束という) を調節する役割を持つ。観察像の明るさが変わるが、観察像のコントラストや分解能も同時に変化することがわかっている。
- コンデンサレンズ (condenser lens)** : 光学顕微鏡の観察試料と光源の間に配置されているレンズ。光源の光を集光して試料に照射するために用いる。コンデンサレンズの性能は、観察像のコントラストや分解能にも影響する。
- コントラスト (contrast)** : 観察画像の中でもっとも明るい点と暗い点の差を示す指標。
- コントロール (control)** : 実験・観察を実施するときに、実験操作を施すグループと比較するために必ず準備する非操作実験グループ (対照実験グループ)。
- 視野絞り (field stop)** : コンデンサ絞りと照明装置の間に配置されていて、観察する試料の照明領域 (照野とも言う) を制限するために使用する絞り。
- 焦点 (focus)** : 集光レンズで光がもっとも集まる箇所。あるいは、試料から出発した光が、観察像の上で集まって、明瞭

な像を投影させる位置。

**走査電子顕微鏡 (scanning electron microscope)** : 観察試料へ細く絞った電子線 (一次電子) を操作しながら照射し、反射する電子 (二次電子) を集めて拡大像を得る方式の顕微鏡。

**ピクセル数 (ピクセルサイズ) (pixel number)** : デジタル化した画像で、XY 方向に細分化した最小単位をピクセルとよぶ。そのピクセルの総数で示した画像の精度を示す数値。ピクセルサイズは、その最小単位の観察試料上での大きさ、つまり、顕微鏡拡大像上の何ミクロンに相当するかを示す用語としても使われる。

**プレパラート (preparat [独])** : 光学顕微鏡観察するために、試料をスライドガラス上に載せたもの。多くの場合、0.17 mm 厚のカバーガラスを載せる (載せたものを観察するように顕微鏡の光学系が設計されている)。Prepared と同じ意味のドイツ語から来た呼称。

**分解能 (resolution)** : 画像の細かさを表現する指標で、判別可能な 2 点、あるいは 2 線間の最小距離で表現したもの。上の解像度の逆数に相当する。

**ホワイトバランス (white balance)** : 画像の中の赤～青の色調を、白色光源を使った照明条件下で観察した状態に近くなるように人工的に加工する作業や画像処理操作を指す。あるいは、その目的で使用する処理ソフトや光学フィルター。

**明視野照明 (bright-field illumination microscope)** : 観察する試料を透過した光 (吸収光以外、回折光・散乱光も含む) を使って観察する顕微鏡で、像は明るい、低いコントラストとなることが多い。