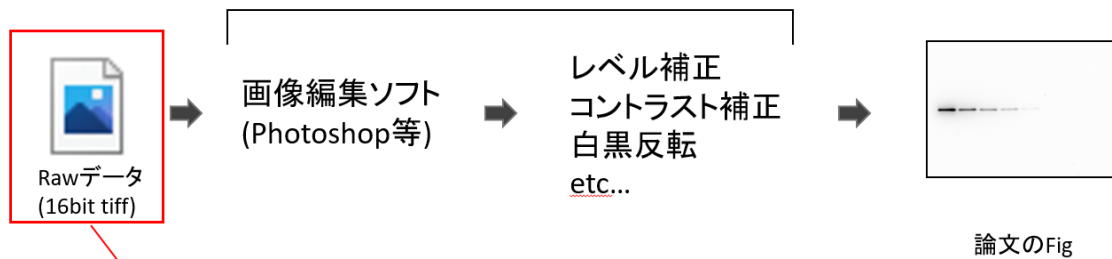


画像ファイルのデータ解釈

本ページでは、画像の見た目とシグナル強度についてご紹介します。

ウェスタンブロットの撮影画像を論文に掲載する際、生データをそのまま使用せずPhotoshopなどの画像編集ソフトウェアで白黒反転などの調整を行う場合があります。この時、“結果が変わってしまうような編集”は一般的に不可とされています。適切な画像編集を行う為には、生データがどのような情報を持っているかについてしっかりと把握する必要があります。

データの結果が変わってしまうような恣意的な画像編集は不可



元のRawデータを正しく解釈することが重要

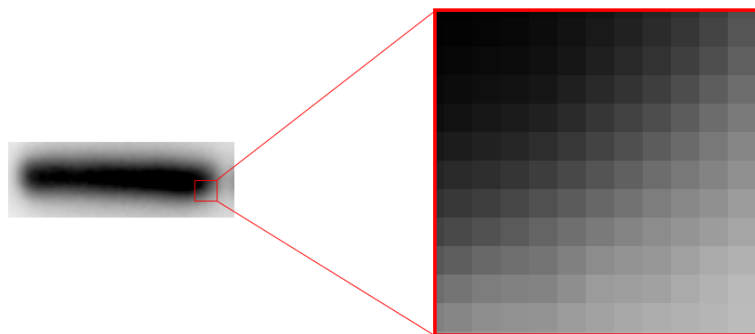
16bit Tiff イメージ

CCDイメージングシステムは、サンプルからの発光・蛍光を電子データに変換して出力します。多くの場合、16bit Tiff イメージフォーマットが使用されます。

サンプルからの光を電子ファイルに変換



16bit Tiff イメージフォーマットの画像はカラーではなくモノクロ画像であり、下図の様に数百万個の「ピクセル」と呼ばれる小さな四角の集合体で描画されています。



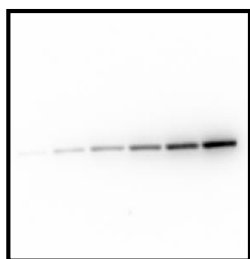
弊社が取り扱っている高感度イメージングシステム「[FUSION](#)」で撮影した場合には、最大で460万個のピクセルによって画像が構築されます。各ピクセルは白から黒の濃淡を持っており、画像の中でシグナルが弱い箇所ほど白く、強い箇所ほど黒く表示されます。また、このグラデーションは 65,535 (2^{16}) 段階で表示されます。

16bit Tiff イメージでの階調表現

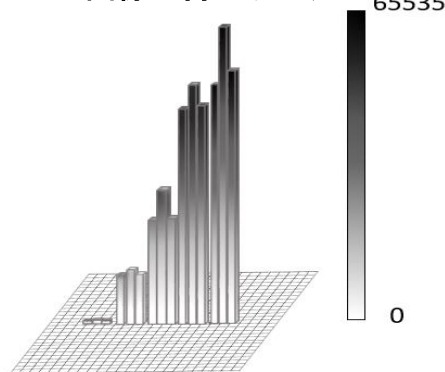


ピクセルごとの濃淡情報、つまりシグナル強度をZ軸方向に反映させると、16bit Tiffの画像は下図の様に三次元的な情報をもつ画像であるともいえます。

表示される画像



画像が持つデータ



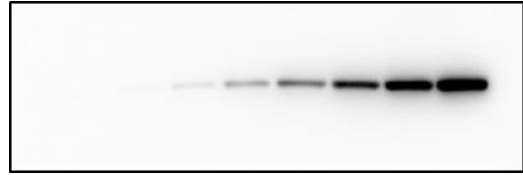
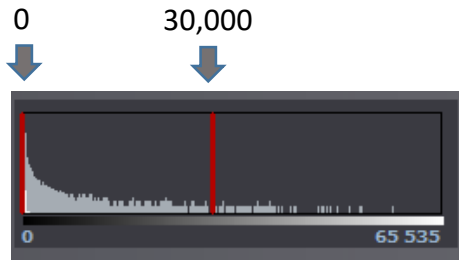
レベル補正について

画像補正の手法の一つに、レベル補正があります。レベル補正では画像を黒く表示させるシグナル値と白く表示させるシグナル値を任意に設定します。



最大のシグナル値が60,000弱のウェスタンブロットの画像を、3通りのレベル補正下で表示してみます。

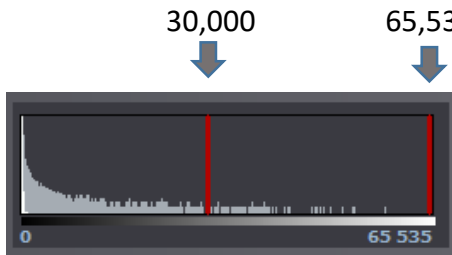
・0 から 30,000 まで表示



0 から 30,000 までのレベル補正をかけた場合、30,000 以上のシグナルを持つバンドは全て「同じ濃さの黒」で表示されます。つまり、30,000 以上のシグナルでは、本来あったはずのシグナル強度差が確認できなくなってしまいます。

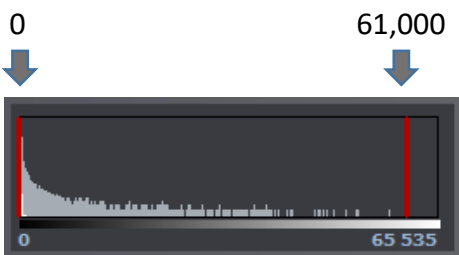
そのためシグナル強度を比較することができなくなり、不適切な補正であると言えます。

・30,000 から 65,535 まで表示



30,000 から 65,535 までのレベル補正をかけた場合、30,000 以下のシグナルを持つバンドは表示されません。つまり、30,000 以下のシグナルを持つバンドは全て見えなくなる為、本来ならば存在しているはずのシグナルが無かったことになってしまいます。そのため、この補正も不適切な補正であると言えます。

・0 から 61,000 まで表示



この画像の最大シグナル値は60,000弱であり、60,000 から65,535 の範囲にシグナルは存在しません。0 から 61,000 までのレベル補正をかけた場合には、レベル補正により本来あったはずのシグナル強度の差が失われることは無く、また、消えてしまうシグナルもありません。そのため、このような補正であれば、結果に影響を与えることは無いと言えます。

以上のように、適切なレベル補正を実施する為には、撮影した画像が、どの程度ダイナミックレンジを使用しているかを把握する必要があります。

ダイナミックレンジについて

得られたシグナル値に差がある場合でも、レベル補正によりあたかもシグナル値が同等であるかのように見た目を調整することが可能です。しかし、見た目が同じであっても、その画像が持つシグナル情報は全くの別物であることに注意が必要です。

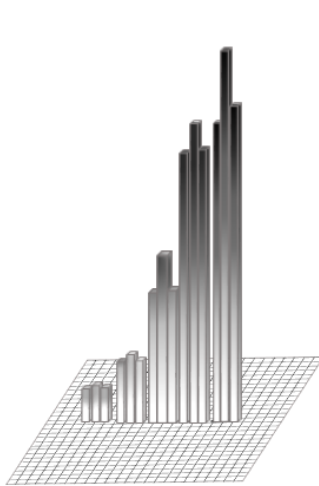
画像の品質を示す指標の一つに、ダイナミックレンジというものがあります。これは、一枚の画像の中で濃淡の差がどれほどあるかを意味しています。データ解析においては、十分にシグナルを取り込んだダイナミックレンジの広い画像の方がより詳細にシグナル強度を比較することが可能です。そのため、ダイナミックレンジの広い画像を取ることが、より良いウエスタンブロットの解析に繋がります。

ダイナミックレンジの広いイメージ

レベル補正済みのイメージ



実際に持っているデータ

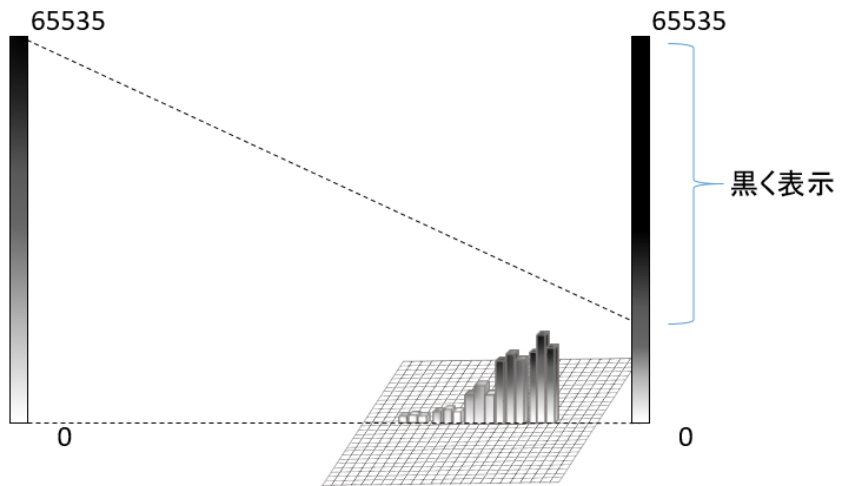


ダイナミックレンジの狭いイメージ

レベル補正済みのイメージ



実際に持っているデータ



弊社の高感度システム「FUSION」を使用すると...

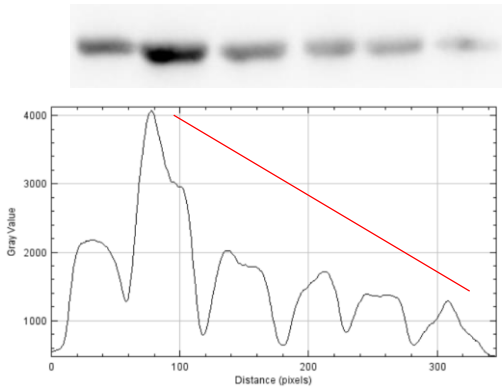


高感度イメージングシステム「FUSION」で撮影すると

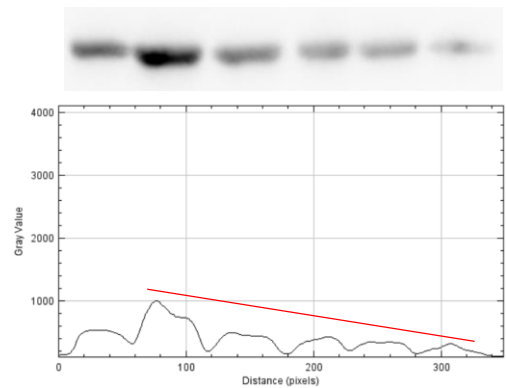
以下の画像は弊社取り扱っている [FUSION](#) と他社製イメージングシステムで同一サンプルを撮影したものです。

レベル補正がかかることで、ほぼ同一の見え目となっています。しかし、イメージングシステムの感度に差がある為、[FUSION](#) で撮影した方が最大のシグナル値が大きく、ダイナミックレンジの広い画像を取得できています。

FUSION による撮影結果



他社製品による撮影結果



ダイナミックレンジの広さに加え、撮影時間の短縮や極微量シグナルの検出など、様々な面で「感度の良さ」が重要となります。

是非、弊社の高感度イメージングシステム「[FUSION](#)」をご検討ください。

