

## ImageJを用いたコロニー数計測

1

## ImageJとは？

- ImageJはNIHが開発している画像解析ソフトであり、生物学の世界では事実上の標準画像解析ソフトである。
- 様々なプラグインで機能拡張できる。
- 対応するOSはWindows, MacOS, Linuxである。それぞれのPCにインストールする際には、それぞれ注意事項がある。(別紙で解説)
- 最近はImageJをインストールしなくてもweb上で作動させることができる。つまり、PCがなくてもスマートフォンでも作動可能となる。

2

## Web上での作動の問題点

- 機能や使えるブラウザや処理速度などの制限がある。ソフトのインストールが分からなかつたり、PCを持って来れなかつたりした場合にはスマートフォンやタブレットなどを用いてもよい。ただし、スマートフォンの画面は小さいため、操作性は劣る。
- ただし、スマートフォンやタブレットでの使用であっても、学生や生徒にとっては画像解析ソフトの使用に対する入り口にはなる。

3

## ImageJのHP

The screenshot shows the official ImageJ website at <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>. The page features a navigation bar with links to home, news, docs, download, plugins, resources, list, and links. Below the navigation is a main menu with options like Features, News, Documentation, Download, Plugins, Developer Resources, Mailing List, and Links. A red arrow points to the 'Run ImageJ in Browser!' link under the 'Download' section.

- <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>
- Run ImageJ in Browser!をクリックするとソフトをインストールしなくてもweb上でImageJが作動するが、PCがある場合には推奨しない。PCがない場合やPCへのインストールが分からない場合だけにする。
- Downloadのリンク先からPCに必要なソフトを選択する。

4

## Run ImageJ in Browserをクリックすると



しばらく左のロゴが出てから(環境にもよるが時間がかなりかかる), 右側のImageJのコントロールパネルが出てきて、起動が完了する。

5

## ImageJの入手先

The screenshot shows the official ImageJ website at <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>. The page features a navigation bar with links to home, news, docs, download, plugins, resources, list, and links. Below the navigation is a main menu with options like Features, News, Documentation, Download, Plugins, Developer Resources, Mailing List, and Links. A red arrow points to the 'Download' link under the main menu.

- <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>
- Downloadをクリックするとソフトのdownloadのページが開く。
- Downloadのリンク先からPCに必要なソフトを選択する。

6

## 一方、PCにImageJのdownloadは

home | news | docs | download | plugins | resources | list | links  
Download

**Platform Independent**  
To install ImageJ on a computer with Java pre-installed, or to upgrade to the latest version, download the ImageJ executable file (Windows 32-bit), download the ZIP archive (6MB) and extract the ImageJ directory. Use the `java -jar` command to upgrade to newer versions.

**Mac OS X**  
Download ImageJ bundled with Java 1.8.0\_172 (62MB). Instructions.

**Windows**  
Download ImageJ bundled with 64-bit Java 1.8.0\_172(79MB). Instructions.

**Documentation**  
Tango Ferraro's comprehensive ImageJ User Guide is available as an IMB PDF (2.2MB) or as a ZIP archive. The online JavaDoc API documentation is also available as a ZIP archive.

**Source Code**  
The bundled Java source consists of 132,000 lines of code in 348 files. It is available as a ZIP archive and as 20 JAR files.

**Example Images**  
31 downloadable sample images and stacks are available in ImageJ's `Sample` menu. These images, and more, are also available as a 2.2MB ZIP archive.

You can also browse the `ImageJ/download` directory at <http://imagej.nih.gov/ij/download>. Never ImageJ distributions are available at <http://www.imagej.net/distro>. Refer to the release notes for a list of new features and bug fixes.

- PCのOSに合わせてソフトをdownloadする。
- インストールの詳細に関しては別紙で紹介する。
- ImageJは商業ソフトではないため、使いにくいところもある。

## コロニー数計測手順

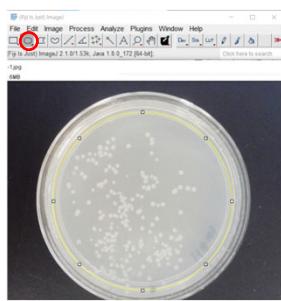
- はじめに “File” → “Open...” で解析したい画像ファイル(保存済み)を開く。
- または、写真ファイルを別のソフトで開いて画像をコピーして “Edit” → “Paste” する。
- なお、**iPhoneで撮影した写真ファイルに関してはWindows PCで開けない問題がよくある。** iOSやMacOSでHEIF (High Efficiency Image File Format)という画像ファイル形式が採用され、それにつけられている拡張子は「.HEIC」である。この対処法に関しては、「科学用Freewares改4.docx」で説明してあるので読んで対処しておくこと。

7

8

## コロニー数計測順(範囲指定)

- “O”を選択して、シャーレ中の計測したい部分だけを選択する。PCの場合は、Shift keyを押しながら縁を広げると円になり、押していないと橢円になる。円周上の口をつかむと拡大縮小可能。黄色い線とシャーレの縁を合わせる。



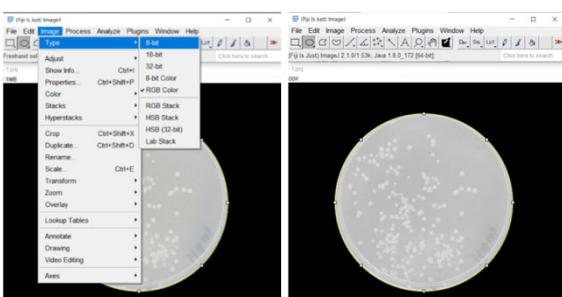
9

## “Edit” → “Clear Outside” で余分な外側部分を消す。



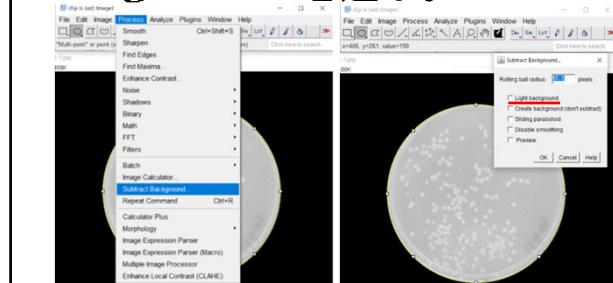
10

## “Image”→“Type”→“8-bit”を選びグレイモードにする。



11

## “Process”→“Substract Background”を選ぶ。

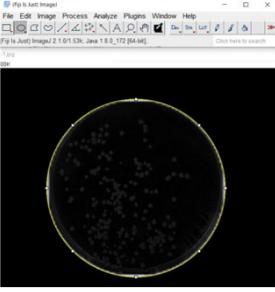


“Rolling ball radius:” の数値を変えても良いが、取りあえず変えない。“Light background” のチェックが付いていれば外す。

12

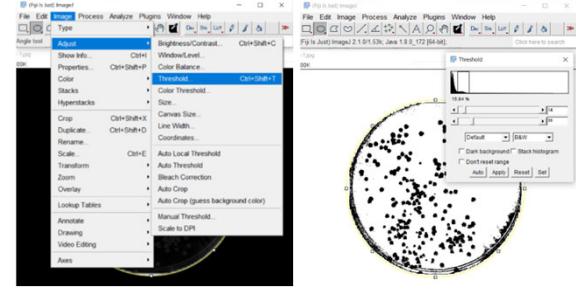
## コロニー数計測手順

- “Light background” のチェックを外し “OK”することにより、バックグラウンドが黒くなる。
- 必ずしもこの操作をしなくても良いが、取りあえずはチェックを外す。



13

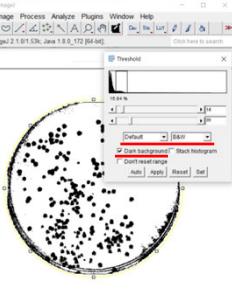
## “Image” → “Adjust” → “Threshold...” (閾値)を選択する。



14

## コロニー数計測手順

- “Threshold” ウィンドウが表示される。
- 左のプルダウンメニューから “Default” を選択する。
- 右のプルダウンメニューから好みで “B&W” 等 (Red等でも良い)を選択する。
- “Dark background” をチェックする。



15

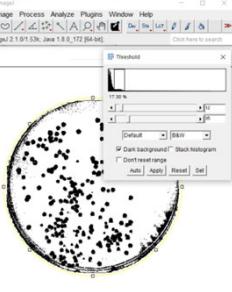
## コロニー数計測手順

- “Stack histogram” をチェックしない。
- ウィンドウのヒストограмとコロニーを認識しているのかを確認しながら、スクロールバーで閾値を調節する。
- “Apply” ボタンを押す。

16

## コロニー数計測手順

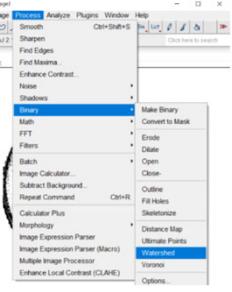
- “Apply” ボタンを押した後は、×を押してウィンドウを消す。



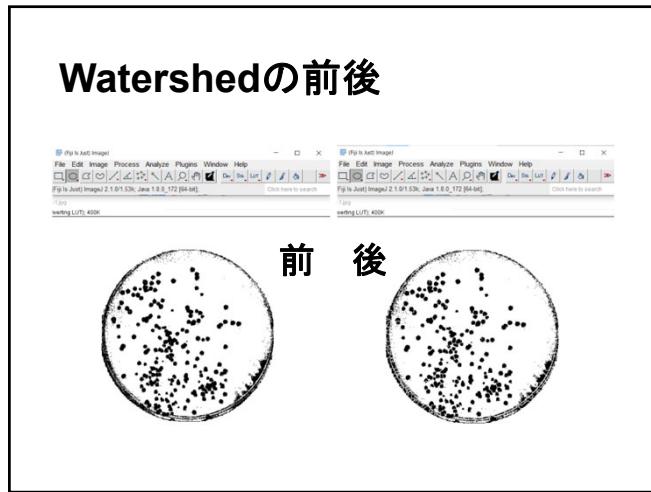
17

## コロニー数計測手順

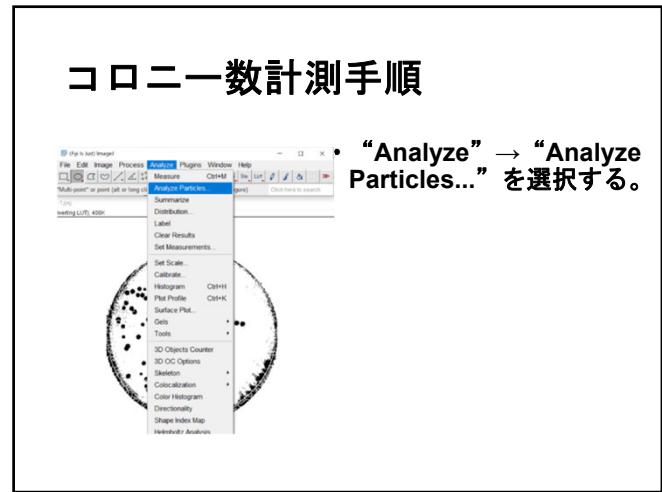
- 繋がったコロニーを切り分け、別々のコロニーとして計測させるために次の操作をする。
- “Process” → “Binary” → “Watershed” で、繋がったコロニーを分割する。



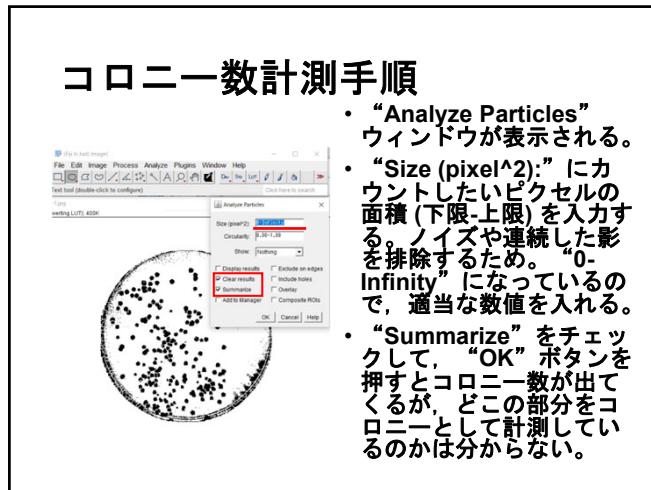
18



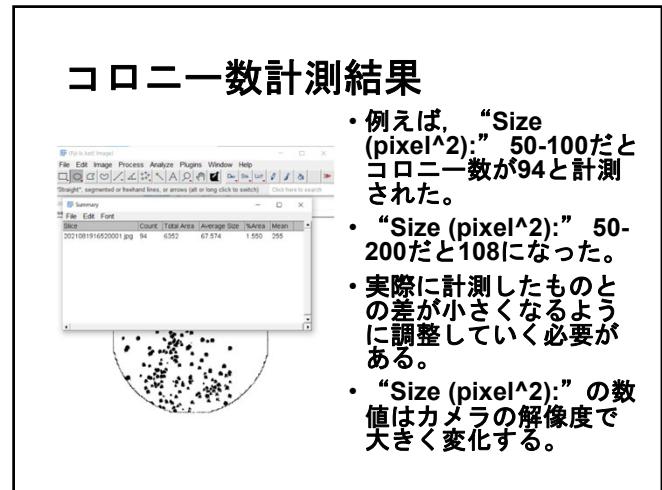
19



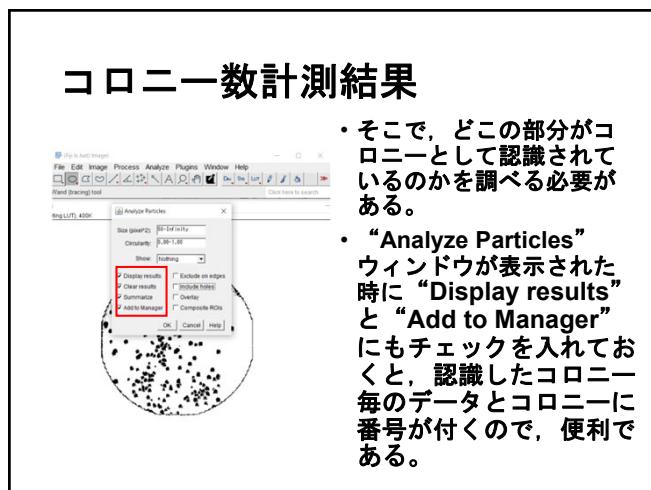
20



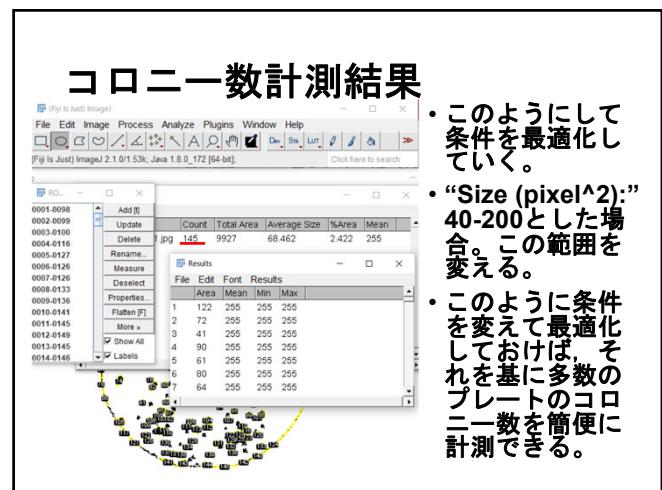
21



22



23



24