

ImageJを用いた 大腸菌のGFP強度解析

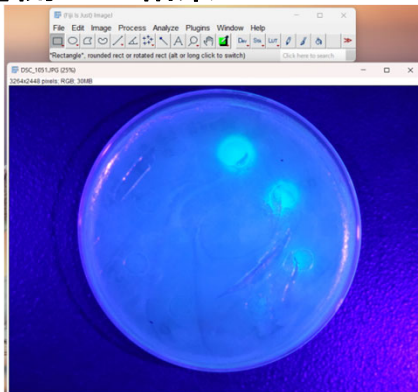
1

GFP強度解析手順

- はじめに“Fileメニュー”→“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、「**光合成色素の分離**」「**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。

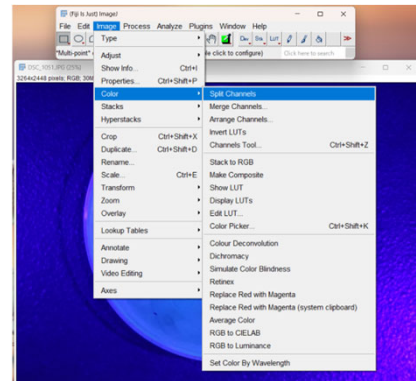
2

写真を開いた結果



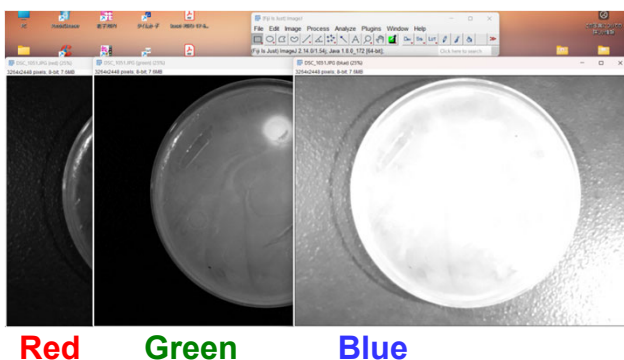
3

“Imageメニュー”→“Color”→ “Split Channels” RGBデータを分割



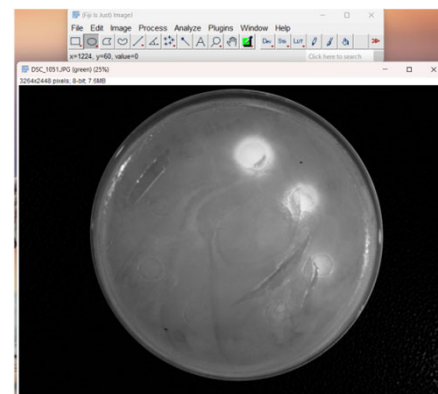
4

R, G, Bの三つのwindowが現れる



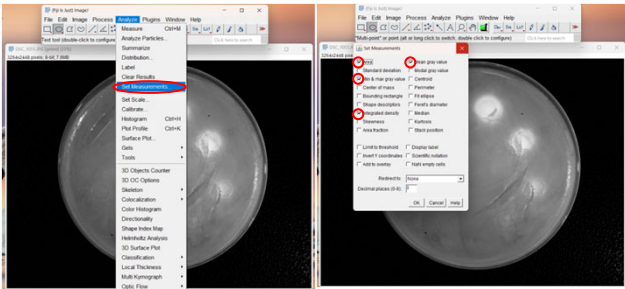
5

Greenのwindowのみ残す



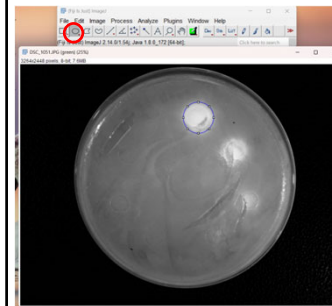
6

“Analyzeメニュー” → “Set Measurements” → Area, Min & max gray value, Integrated density, Mean gray valueにチェック(測定項目選択)



7

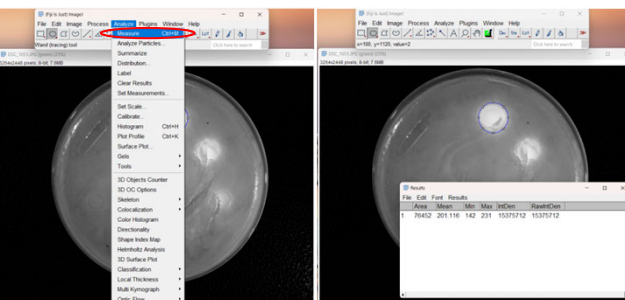
スポットの形状に合わせて○, □, フリーハンドをselection toolの中から選択。



• window上に矢印を持って行くと+マークになる。(＋マーク: 作成と既存の選択範囲がある場合には新たにクリックすると既存の範囲の解除と新規作成, ＋マークでshiftを押す: 既存の選択範囲に加えて新たな範囲を加える、つまり複数作成, 選択された範囲に＋マークを近づけると指マーク: 変形, 選択されたものの中心部に＋マークを持って行くと矢印マーク: ドラッグによる移動)

8

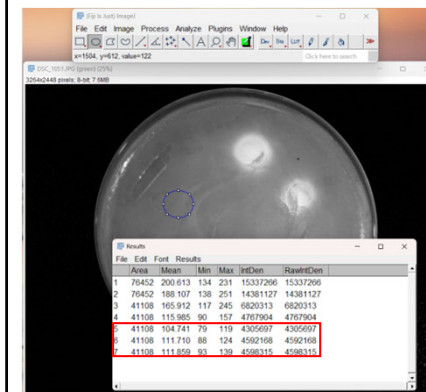
“Analyzeメニュー” → “Measure”



Resultsが新しいwindowとして出てくる。測定後、画像のwindowに＋マークを持って行きクリックして選択を消す。もしくは、同じ形状であれば選択された部分を矢印マークでドラッグして目的の位置まで移動させる。必要なだけ“Measure”する。

9

Backgroundも計測



必要なスポットを計測したら、backgroundも計測する。1～4は蛍光スポットの計測値、5～7はbackgroundの計測値。

10

CTFを算出

- CTF: Corrected total fluorescence
- Integrated Density (IntDen): Area × Mean
- CTF = Integrated Density
 - (Area of spot × Mean fluorescence of background readings)
 - = Area of spot × (Mean fluorescence of spot
 - Mean fluorescence of background readings)
- 複数のbackgroundの平均(Mean)から更に平均値を算出して、Mean fluorescence of background readingsを計算する。
- グラフ化して考察する。

11