

ImageJを用いた 大腸菌のGFP強度解析

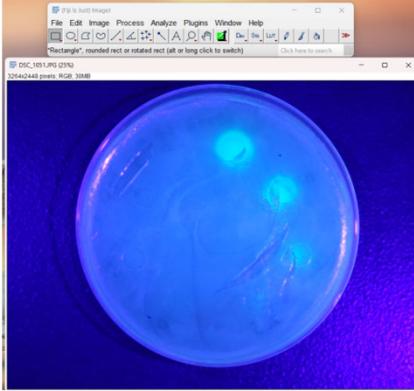
1

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こう。](#)

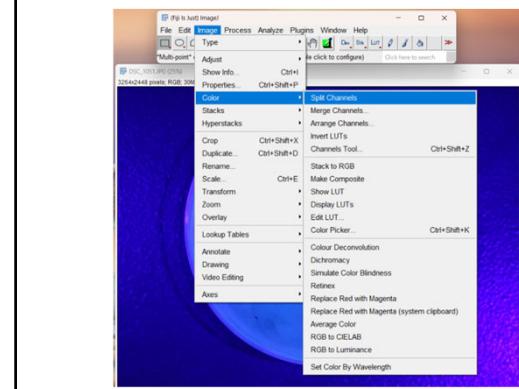
2

写真を開いた結果



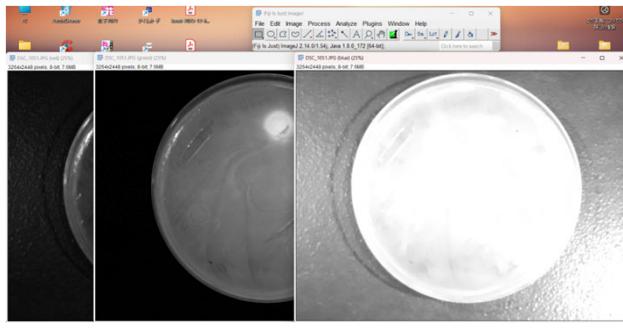
3

“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



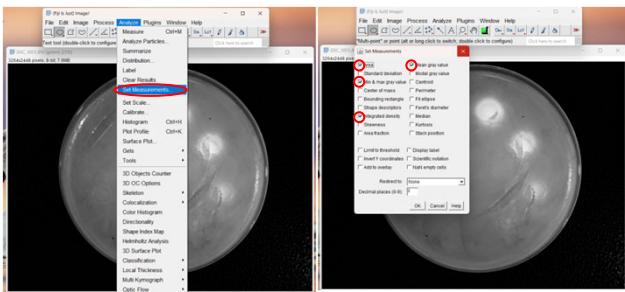
5

Greenのwindowのみ残す



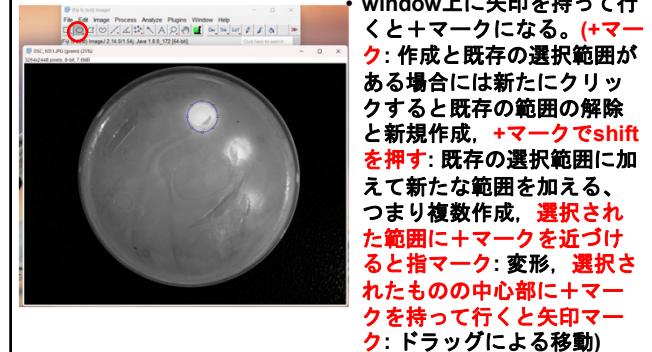
6

“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)



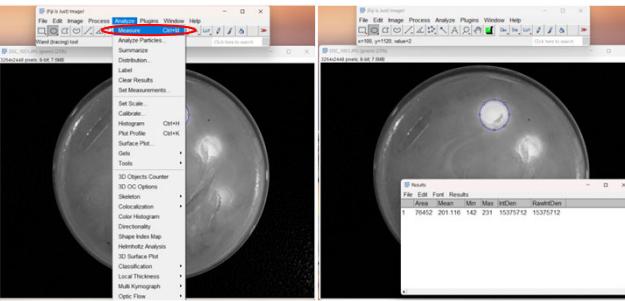
7

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。



8

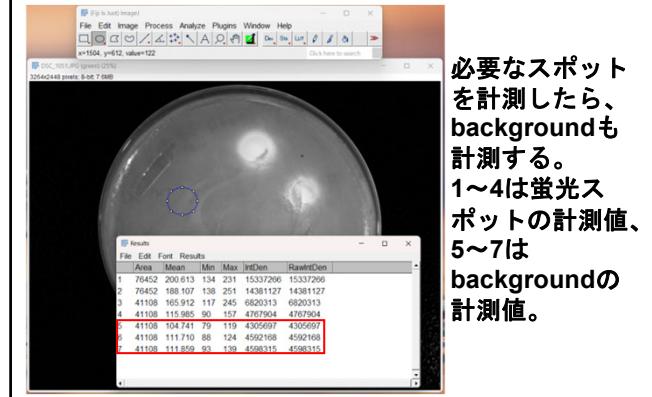
“Analyzeメニュー” → “Measure”



Resultsが新しいwindowとして出てくる。測定後、画像のwindowに十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



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