



質問・コメントとそれに対する回答

Photoshopによるゲル画像の調整 (2008年12月号掲載)

中山敬一 (九州大学生体防御医学研究所)



Photoshop上で露光時間2倍、あるいは、感度2倍とするくらいなら、最初からそのような露光をすべきではないかと考えています。実際、どの程度まで関連があるのかわかりませんが、X線フィルムには相反則不軌の現象が知られており、トーンカーブ操作が適切であるのか自信がもてないです。



“原理的”には、“Photoshop上で露光時間2倍、あるいは、感度2倍とする”ことに問題はありません。しかし現実的には、指摘のとおり、低露光のイメージを無理やり操作することはあまりよくありません。画像は多数の点の集合体であり、近接した点と点とのあいだのバラツキが大きいと画質が荒れるからです。本稿では、

“Photoshop上で露光時間2倍、あるいは、感度2倍”としてもよいと述べているのではなく、これがX線フィルムでの露光とどのような関係にあるかという点を説明するため例として用いたのであって、それを推奨するものではありません。また、“相反則不軌”の話がでてきましたが、一般の読者にとってあまりなじみがない言葉だと思いますので簡単に説明します。X線フィルムで非常に弱いシグナルを露光するとき、露光時間(シグナル)を2倍にしてもバンドの濃さ(レスポンス)が2倍にならない現象を相反則不軌とよびます。この現象の化学的な説明はつぎのとおりです。X線フィルムは、フィルム乳剤上の近接する4つの銀粒子が短時間のあいだに同時に化学反応を起こさないと黒化しません。つまり、非常に長時間かけて露光を行わなければならないような弱いシグナルを検出する場合には、ひとつの光子が当たってからつぎの光子がくるまでの時間が長くなるため、せっかくできた銀粒子が熱によって分解してしまいます。冷却によって熱を下げてやれば、ある程度は相反則不軌を防ぐことができます。筆者も、以前はサザンブロットリングなどで1週間ほどX線フィルムを露光する際にはフィルムを-80℃の冷凍庫に入れていました(最近の若い人はあまり知らないと思いますが)。質問にあるように、相反則不軌を起こすような低露光シグナルに対しては、トーンカーブ操作はしばしば荒れた画像を作成することにつながり、すすめられません。ちなみに、相反則不軌はX線フィルム乳剤における問題であり、最近、ウェスタンブロットリングでさかに行なわれているようなCCDカメラを用いて化学発光を検出するような方法では、光検出素子が原理的には1光子から電気信号に変換できるので、相反則不軌について心配することはないと理解しています。



つねにヒストグラムを意識し、飽和しない、シグナルの範囲内でのトーンカーブをいじらない、の2点を徹底するのがよいのではないかと考えています。シグナルとかぶらない範囲でのゲイン、オフセットの操作は許容範囲内だと思っていますが、その理解で正しいのでしょうか？



現実的な認識としては正しいのですが、原理論からいえば“トーンカーブをいじらない”という点は必ずしも正しくありません。トーンカーブは“適正な”方法でなら操作しても問題ないと思いますし、もともとデフォルト設定にあるトーンカーブがもっとも適正であるというわけでもありません。おそらく、質問の趣旨は“トーンカーブをいじらない”くらいのもりがよいということだと思います。その心構えについては賛成します。本稿については、Photoshopの原理を説明するのにトーンカーブの例がもっとも理解を容易にするだろうという意図でこれを多用しましたが、原理をよく知らないのにトーンカーブをやたらいじることはかえって危険です。シグナルとかぶらない範囲でのゲイン、オフセットの操作は許容範囲内ではないかという指摘ですが、基本的に筆者も問題ないと判断します。しかし、最終的には、真のシグナルとかけ離れた画像を無理やりつくりださない、という点がもっとも肝要であることはいうまでもありません。



スキャナで取り込む時点で、デフォルト設定では自動的にガンマ値が補正されてしまう機種があるように思います。スキャンの時点で気をつけるべきことを解説ください。



スキャナの特長については、機種によって仕様がいろいろなので本稿ではとりあげませんでしたが、もし、ガンマ値補正などが気になるようでしたら、使っている機種の使用説明書をよく読んで補正をオフにするしかないさそうですね。そもそも、X線フィルムで露光して、それをスキャナで取り込み、さらにPhotoshopで操作すると、はじめのシグナル値がもつ情報が変質する危険性が高くなります。もし、直接的にシグナル量を定量できるような実験方法や設備をもっているようでしたら、そちらの使用をすすめます。たとえば、ウェスタンブロットリング法の化学発光の検出に際しては、富士フィルム社のLASシリーズやBio-Rad社のVersaDocシリーズなどCCD素子を用いた機種では、光子量をそのままカウントしているので定量性という点で比較的安心して使用できます。SDS-

ポリアクリルアミドゲル電気泳動の銀染色像などはどうしてもスキャナで取り込む必要がありますが、そもそも、銀染色はそれほど定量性のないことが知られています。

Q 記事ではS字型のシグナル-レスポンス変換曲線を用いた画像処理の方法を中心に紹介してありますが、特殊な事情がないかぎり、曲線部のない“Z”字型の変換曲線での調整 (Photoshop でいえば、“レベル補正” ツールを用いた調整と同様) のほうが好ましいのではないのでしょうか？

A S字型とZ字型のどちらがよいかという質問ですが、Z字型のほうがすぐれているという理論的な根拠はありません。どちらにせよ直線部を用いて定量を行なう必要があります、その前後部分が曲線であろうと直線であろうとあまり意味をもたないからです。しかし、直線を用いると屈曲点が生じるので、人間の目にはS字型のほうが自然に見える、というのが筆者の個人的な感想です。実際、世の中に存在する多くのアナログ機器の反応曲線はS字型であることが知られています。

Q 図2 (b) での議論で、図中にある直線型のシグナル-レスポンス曲線でレスポンス差が縮小しているのは、変換曲線がX軸に接する点が原点にあること、すなわち、バックグラウンドシグナルを差し引いていないことが原因であり、変換曲線が直線であることが原因ではないと思います。しかし、この表現では“直線であること”がいけないことであるかのような誤解を生じるおそれがあると思います。記事の主題である公正性に関するかぎり、変換曲線に直線を用いることはむしろ好ましく、曲線部のある変換曲線を用いることは極力さけるべきであると思います。

A 指摘のとおりです。図2 (b) での議論で筆者が述べたかったのは、“バックグラウンドを差し引いていない単純画像は、人間の目を見た場合に、実際の定量値とはかけ離れて見える”ということで、直線であることがいけないわけではありません。誤解をあたえるような表現だったのは反省しています。何度も述べていますように、S字曲線を用いてもその“直線部”で定量を行なうことが絶対に必要です。しかし、自然界の多くの反応曲線はS字型であることが多いので、その例を用いて説明を行ないました。