

デジタル撮影 TEM の紹介とフィルム写真との画像比較

三重大学医学部医学系研究科

小川 覚

s-ogawa@doc.medic.mie-u.ac.jp

1. はじめに

写真撮影のデジタル化は、電子顕微鏡分野にも浸透してきており、走査型電子顕微鏡 (SEM) はもとより透過型電子顕微鏡 (以下 TEM) 撮影も最近ではデジタルカメラが標準になってきている。医学部にも、数年前にデジタル撮影タイプ TEM (JEOL・JEM-1011、Soft Imaging System・MegaView III カメラ付属) が設置され、共同利用されている。しかし、デジタル撮影画像を従来のフィルム写真と比較してみると、当然ながら画素数の差による画質の違いがはっきりと見られる。しかしこのことは、利用者の研究目的によって、また試料の種類などによってこの画像で良いか否かの判断が一様ではない。

そこでその違いを把握することで、利用者の判断の参考になるように、デジタル画像、フィルム写真の各々の画像について比較を行ってみた。紹介を兼ねて報告する。

2. デジタル撮影 TEM の紹介

当装置は医学部共同利用機器として、他の研究機器と共に平成 16 年度に設置されたデジタル TEM であるが、学部内だけでなく広く利用に供するために、設置当初から学内利用を前提として利用され現在に至っている。(図 1)

装置としては小型であり、最高加速電圧 100kV と高加速タイプではないため、医学・生物学系の生物組織試料や高分子素材など、高加速電圧ではコントラストが落ちるような試料を観察するのに適した装置である。通常は 80KV で使用している。もちろん、その他の試料でも、加速電圧が低いため電子線透過力が弱いことを理解し、その試料に合った観察が可能である。

また、デジタルカメラシステムの付属 (図 2) により、これまでの写真撮影の際には必ず行っていた (今も他の既存の TEM では行っているが) フィルムの現像と印画紙プリントという、暗室内での時間を要する作業や、またはスキャナーを用いたネガフィルム画像のデジタル化作業から解放され、利用者にとっては、より迅速に TEM 写真が得られるようになった。更に、暗室作業で使用していた、写真現像液、定着液などの薬品使用が減ることにもなり、環境にも優しい TEM とも言える。



図 1 . デジタル TEM 全景

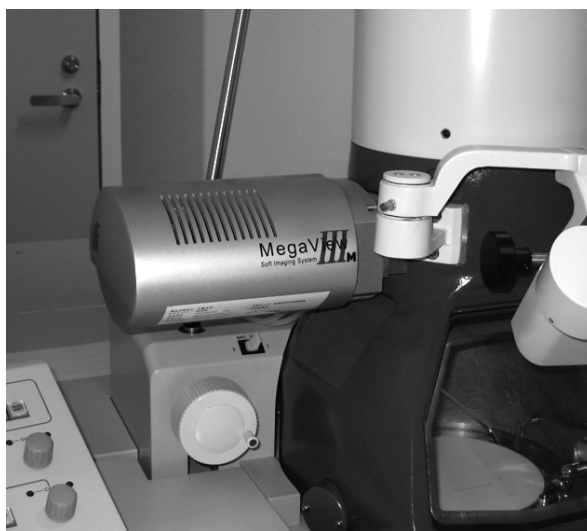


図 2 . デジタルカメラユニット

当装置の主な機能は以下のようなものであり、操作はコントロールソフトウェア「iTEM」から行う。オートゲイン機能により、低コントラスト試料でも、最適コントラスト撮影が可能。カメラは蛍光板より上方の、電子線通路上にイン、アウトされる。フルサイズフィルムに比べて、面積比で約2倍ほど広い範囲が撮影される。画像の保存は、各種タイプから選択できる。(TIFF形式であれば倍率等の情報も同時に保存可)。画像にレイヤを付けて保存可能。画像計測、画像処理、画像解析といった各種処理機能がプログラムされている。表1に、カメラ部の主な仕様を記載する。

CCD タイプ	2/3 インチ (10.2 × 8.3mm)
解像度	1376 × 1032pixel
ピクセルサイズ	6.45 × 6.45 μ m
デジタル化	12bit
露光時間	100 μ s ~ 160 s
表示	リアルタイムで全画像
カメラマウント	広角ポート (サイドマウント)
カメラ出し入れ	空気圧による PC 制御

表 1 . Mega View III の主な仕様

3 . デジタル画像とフィルム画像

3 . 1 . 微細構造の分解能比較

このように、画像がデジタルとして簡単に得られるのは、便利で良いと思われるが、実際に利用してみると、従来のフィルム写真と比べて画質の違いに戸惑うことがある。そこでまず、両画像の各条件を比較した。(表2) なお今回比較のためのフィルム撮影は、HITACHI・H-7000を用いた。

	デジタルタイプ TEM	フィルムタイプ TEM
サイズ	縦 364.07mm × 横 485.42mm (撮影時) 縦 96.73mm × 横 128.97mm (撮影倍率にリサイズ後)	縦 88mm × 横 68mm
解像度	72ppi (撮影時) 271ppi (撮影倍率にリサイズ後)	1,200ppi
画素数	約 140 万画素	約 1,330 万画素
ファイル容量	1.35MB	12.7MB
焦点調整方法	モニターまたは蛍光板で調整	蛍光板で調整
写真処理	記録媒体への保存のみ	フィルム交換、現像、プリントの作業が必要
画像解析等	撮影後、その場で処理が可能	スキャナーによるフィルム画像のデジタル化後に行う

表 2 .各タイプの画像条件の比較

表2の中でサイズと解像度について補足すると、デジタルタイプでは、撮影時のサイズが蛍光板上に映る倍率サイズより格段に大きくなり、また解像度が72ppiと少なく保存される。このままプリントするとA3以上のサイズになってしまい、実倍率が把握しにくいいため、撮影時の倍率と等倍になるように、総画素数を保ったまま解像度を上げてリサイズした271ppiを用いている。またフィルムタイプの方は、スキャナーを使用してデジタル化を行っており、「蛍光板上の倍率 = フィルム上の倍率」であるので、

スキャン倍率を 100% (等倍)で行っているのと、解像度はスキャナーの設定の中から、保存時のファイルサイズも考慮して 1,200ppi に設定している。

図3がフィルム、デジタルの各写真を等比率で縮小した画像で、どちらも撮影時の倍率は 6,000 倍である。同じ倍率で撮影しているが、撮影面積がデジタルの方が 2 倍ほど広いのがわかる。

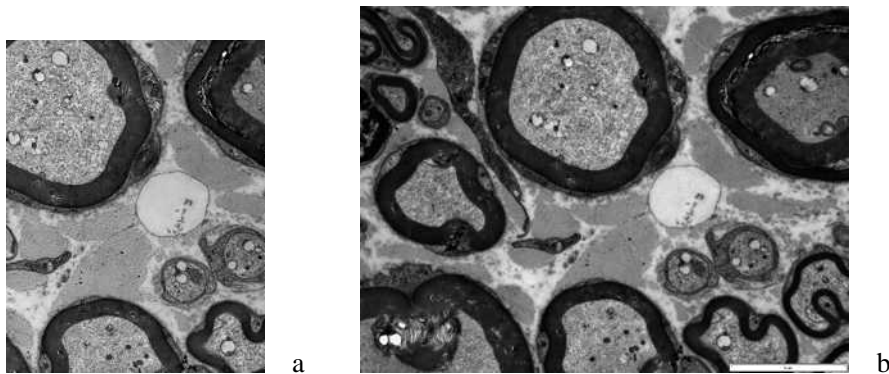


図3 . フルサイズでの両タイプ撮影エリアの比較

a : フィルム写真、 b : デジタル写真

今回使用したサンプルは神経の髄鞘という円筒状の構造で、横断で暗線の層に見える(図4)。その暗線の間隔は約 14~18nm であり、これは細胞膜や細胞内構造体の膜である単位膜の約 2 倍である。その線が分解確認できる倍率は、蛍光板上でビノキュラーによる観察では、6,000 倍あたりである。これをフィルムで撮影すると図4 aのように 6,000 倍で線間が分解できるが、デジタルの場合では、6,000 倍(図4 b)では線間が潰れてしまう。デジタル画像で層の分解が確認できるのは、25,000 倍(図4 c)あたりで線間隔らしい線が見え、40,000 倍(図4 d)あたりで線間隔がやっと確認できるレベルになる。

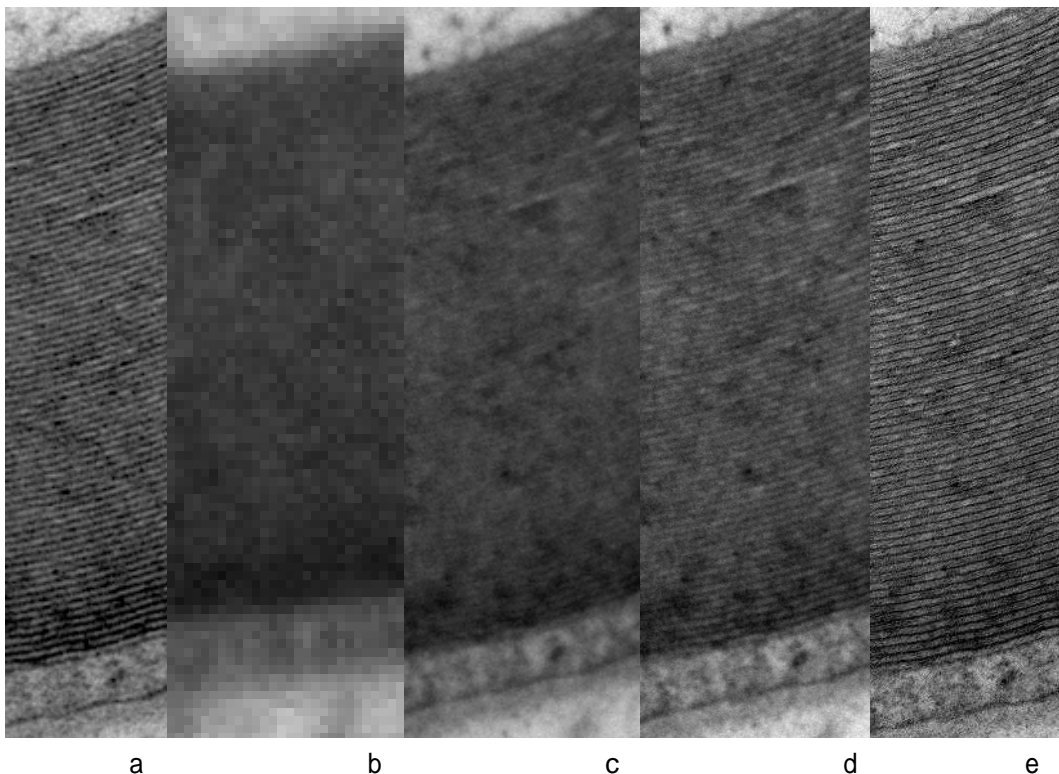


図4 . 写真タイプと倍率の違いによる分解像の比較

a,e:フィルム、a:x6,000、e:x40,000 で撮影

b,c,d:デジタル、b:x6,000、c:x24,000、d:x40,000 で撮影

このように、デジタル TEM による撮影により、フィルムより広いエリアの撮影ができることは、特に生物組織試料の撮影では細胞組織をより広く、倍率 2,000 ~ 10,000 倍ほどで撮影することが多いため、情報量が多くなる利点があるが、一方で、倍率を上げないと微細構造が判別しにくいということになり、この長所短所を理解して、これまでとは撮影時の考え方を変えることが必要になる。

3.2. 自動パノラマ機能による広視野デジタル画像撮影について

当デジタル TEM の画像撮影機能の中に、「自動パノラマ作成機能 MIA」というものがある。これは、低倍率のように広視野を、高倍率のように高画質で写真を残したいという目的に、ある意味で近づける撮影方法である。まず撮影前に、任意の倍率で必要とする範囲の視野を何分割にして撮影するかを、指定しておく。視野移動と撮影は、モータードライブ機能は備えてないので、手動で行うことになるが、1 視野目を撮影し終わると、次の視野とのオーバーラップする部分をモニターの端に残すので、そこに 2 視野目の端を重ねて撮影する。(図 5) この操作を指定した枚数だけ行い、撮影し終わると、自動的に継ぎ目と明るさを補正した 1 枚の画像が出来上がる。

こうして出来た写真は、継ぎ目が完全には消えないので少々の違和感が残るが、広視野高画質の画像を得ることが可能になる。この機能を利用して、フィルム画像に近い画質の写真を得るためには、例えば倍率 6,000 倍の範囲で 40,000 倍ほどの画質が必要であれば、約 7 倍となるため枚数としては縦横で合計 49 枚も必要になり、ファイルサイズも 1.35MB × 49 で約 67MB となってしまう。これは極端な例であり、また常時この機能を利用することは無いとしても、機能を把握しておくことは必要と考える。

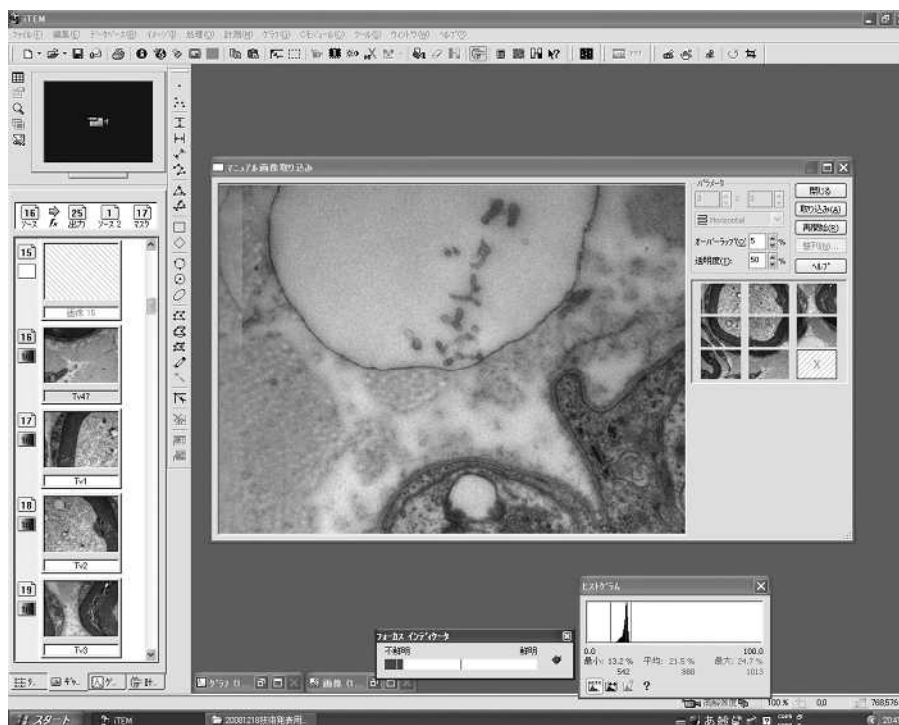


図 5 . 自動パノラマ機能の操作画面

4. おわりに

TEM 用のデジタルカメラには、他にサイドマウントタイプでより高解像度のものや、高分解能 TEM に最適なボトムマウントタイプのものなど、いくつかの種類が出ているが、性能に比例して数千万円と高価になるので、導入するのは簡単ではない。しかし今後のデジタルカメラ標準化を見据えて、デジタル写真をどう理解して利用するか、これまでのフィルムと印画紙プリントというアナログの技法を元にして、また違った視点も含めて技術 UP を考えていくことが必要と感じている。