

ビデオ顕微鏡像による生体運動の解析

Image Analysis of Living Motion using Video Microscopy

長谷川 聡^{†)}, 長谷川 昌広^{†)}, 下 理恵子^{†)}, 御橋 廣眞^{†)}

Satoshi HASEGAWA, Masahiro HASEGAWA, Rieko SHIMO and Koshin MIHASHI

†) 名古屋文理大学 情報文化学部 情報文化学科, †) 名古屋大学大学院 多元数理科学研究科

ビデオ顕微鏡法によって捕らえた生体運動の様子を、デジタル動画画像解析によってコンピュータ解析し、対象物の運動速度や変形に関するパラメータを抽出する方法について、具体例を挙げて示し、その得失を議論する。具体例としては、「シャジクモ・ミオシン顆粒の運動性の解析」「in vitro滑り運動系でのアクチンフィラメントの運動解析」「メダカ初期発生卵の律動性収縮運動の解析」を挙げるが、これらは、運動する生体材料の形状と運動の性質により、それぞれ、「重心点の運動」「ひも状物体の長軸方向滑り運動と変形」「球体の変形と表面波の伝播運動」の例と見ることができる。重心点の運動に関しては、運動性を表すパラメータとして、速度ベクトルの他に持続性 (persistence) などを紹介し、時間積算した画像から熱ゆらぎ運動と方向性のある運動との区別を行った例を示す。ひも状物体の2次元滑り運動と変形に関しては、重心点の運動にはない問題点として、速度と変形の計測に関する相補性 (complementarity) を指摘する。また、球体の変形と表面波の伝播に関しては、変形から生体リズムを計測した例を示し、2次元像から3次元物体上の運動速度を算出する方法を示す。これらの例を通して、生体運動のデジタル解析における現状と今後について考える。

キーワード：動画画像、ビデオ顕微鏡、生体運動、コンピュータ解析

moving image, video microscopy, living motion, computer analysis

1. ビデオ顕微鏡像とその動画画像解析

筋収縮や細胞運動をはじめとする、生体運動の解析^{1)~6)}が、個々の生命現象の様子を知るためだけでなく、アクチンとミオシン^{1)~3)}などのいわゆるモーター蛋白質³⁾の相互作用による分子レベルでの運動の素反応の機構 (そもそもどんな仕組みで生き物が動くのか) の解明を目指して行われている。近年、この生体運動の解析に、ビデオ顕微鏡法^{7)~10)}を用いることが一般化し、ビデオ画像による生体運動のデジタル動画画像解析^{11)~15)}が行われるようになってきた。

ビデオ顕微鏡法とは、顕微鏡画像信号をSIT (silicon intensified target) カメラやCCD (charge coupled device) カメラを用いてビデオ画像として記録することを指す。この方法の利点として

は、単に、保存された顕微鏡像を繰返し観察できるという点だけではなく、観察像のビデオ化によって顕微鏡だけでは得られなかった高い拡大率と分解能が得られ⁹⁾¹⁰⁾、また、リアルタイム処理では不可能だった時間軸方向のデータ解析によって様々な情報が得られるという点を挙げるができる。とくに、後者の利点の実現には、コンピュータによるデジタル動画画像処理の技術が貢献していると言える。

本稿では、生体運動の解析を目的にしたビデオ顕微鏡像のデジタル動画画像解析の例として、以下に、3つの事例を挙げ、各事例における解析方法を紹介するとともに、運動性を特徴づける運動速度と形状変化の解析に関して、対象物とその運動の性質により生ずる問題点を指摘する。

2. 顆粒の運動 ～事例1：シャジクモ・ミオシン顆粒の運動性の解析～^[註1]

シャジクモ（車軸藻）のミオシンは、細胞内で、小胞体などのオルガネラを牽引しながらアクチンフィラメントに沿って滑り運動し、原形質流動を起こす。シャジクモは植物であるにもかかわらず、そのミオシンが起こす滑り運動は、常識的には最も運動に適して進化していると考えられる動物筋肉のミオシンに比べて、約10倍の速度（60～100 $\mu\text{m/s}$ ）を持っている³⁾¹⁷⁾。この特質が、研究者の注目を集めている点である。

本事例は、カバーガラスでほぼ平面に運動範囲が制限された実験系で、溶液中を運動する顆粒状のオルガネラを、暗視野顕微鏡⁷⁾で捕らえたものである。顆粒は、暗い背景に対して、遥かに明るい光として観察される（図1(a)）。この観察像をビデオで記録し、動画像解析コンピュータシステム¹⁸⁾²⁾に取り込んでデジタル解析を行った。この顆粒の特定の溶液条件下での運動性を解析することが、運動機構の解明に役立つ情報を得るために重要である。

本件では、顆粒の移動による運動性を解析の対象とするので、顆粒濃淡像の大きさや形、明るさの変化などは問題にしない。このように対象物に形の異方性がなく変形も無視できる場合、対象像を適切な閾値（threshold）で2値化¹²⁾し、重心座標を求めることで、重心1点の運動とみなすことができる。図1(b)は、原画像(a)に2値化处理を施したものであり、(c)および(d)は、時間間隔1/30秒ごとの重心点の像を重ね合わせ（superimpose）したものである。図1(c)に示されたように、この観察像には方向性を持って移動するもの（例えば図中の白塗り矢印）とそうでないもの（例えば白枠黒塗り矢印）とが含まれている。前者は能動運動、後者は熱ゆらぎなどと考えられる。このような運動性の差異を定量化するにはどうすればよいのだろうか。

1点の運動を定量化するための基本パラメータとしては、まず、速度（速さと移動方向）が挙げられる。一般に、時間 Δt の間の移動距離 d から速さ $v=d/\Delta t$ を求めることができるが、移動点の座標の時系列を一

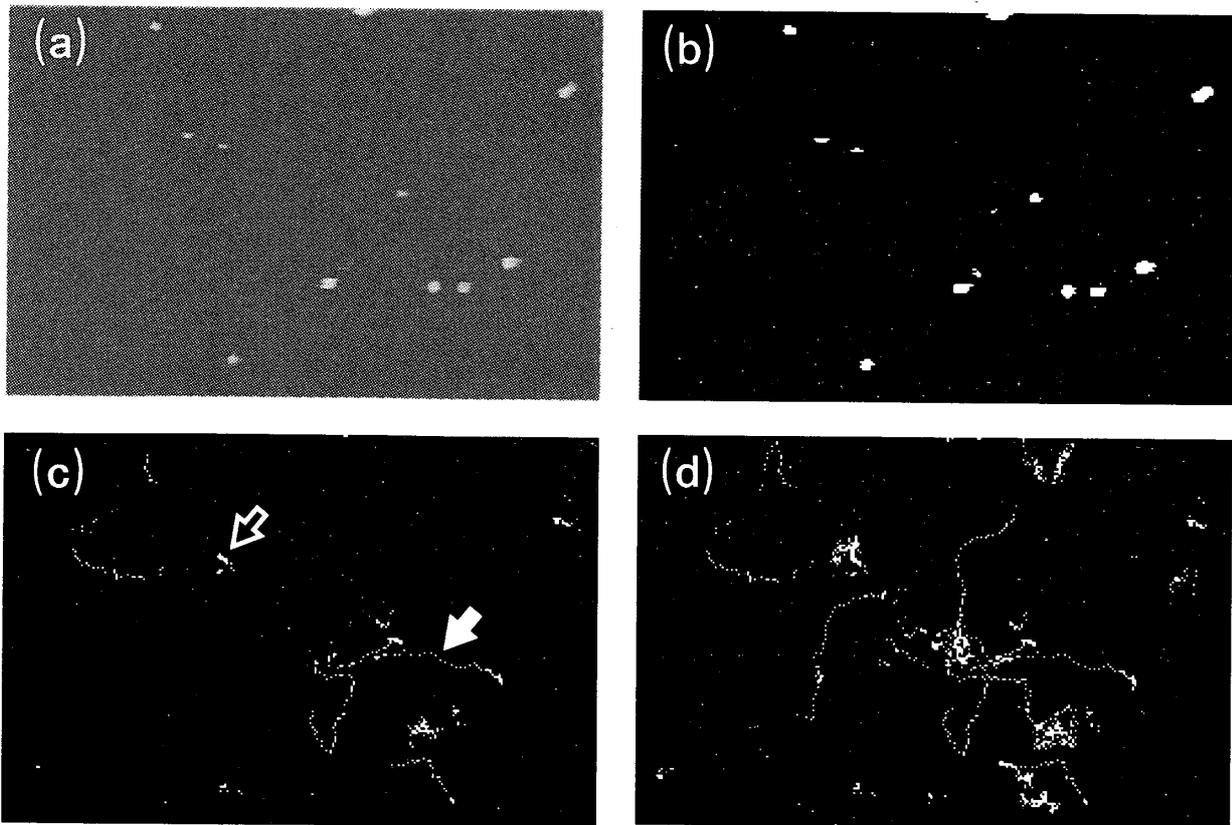


図1 顆粒の運動の画像解析例

(a)原画像（暗視野顕微鏡像）（画像提供：名古屋大学・生命理学・森松美紀、藤目杉江） (b)2値画像

(c)重心点の画像の重ね合わせ（60フレーム、2.0秒間）、(d)同（192フレーム、6.4秒間）

定の測定時間間隔 Δt で計測する場合には、時刻 t における速さ $v(t)$ を、1 点が時間とともに移動した3つの座標値のデータから次の(式1)のように定義することもできる⁴⁾。

$$v(t) = (d_1 + d_2) / 2 \Delta t \quad (\text{式1})$$

ここで、 d_1 は時刻 $t - \Delta t$ から t までの移動距離、 d_2 は時刻 t から $t + \Delta t$ までの移動距離である (図2)。一般に、 Δt が大きいほど速さ v の値は小さく算出される傾向があるため注意が必要である⁴⁾。これは、距離 d は測定された2点間の直線距離であるのに対して、生体運動が一般に直線的でなく軌跡の屈曲やゆらぎ (高周波成分) を含むためである。

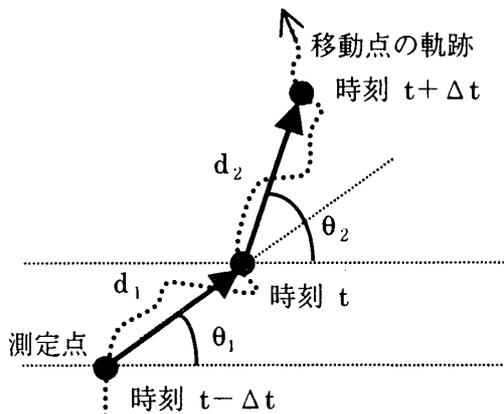


図2. 点の運動性を表すための測定パラメータ

また、1 点の時間の異なる2つの座標値を結ぶベクトルの方向角 θ を進行方向とみなすことができる。 θ は座標軸に対する相対値であるが、その時間変化 $d\theta$ は座標軸によらない値である。時刻 t における進行方向の変化は、

$$d\theta(t) = \theta_2 - \theta_1 \quad (\text{式2})$$

であり、 θ_1 は時刻 $t - \Delta t$ から t までの進行方向、 θ_2 は時刻 t から $t + \Delta t$ までの進行方向である (図2)。ただし、 $0 \leq d\theta < \pi$ (式2の結果 $\pi \leq d\theta < 2\pi$ となるときは $2\pi - d\theta$ を $d\theta$ とする)。また、速さの場合と同じく、 θ および d の値も、測定時間間隔 Δt に依存することに注意する必要がある。

Δt が小さいとき、移動の速さ v だけでは、熱ゆらぎ運動と、方向性を持った能動運動とを区別することは

できない。能動運動する顆粒の速さが $\sim 20 \mu\text{m/s}$ と熱ゆらぎ同様に、高速であり、熱ゆらぎの特徴は、進行方向の変化がランダムな点だからである。 v と同時に $d\theta$ を考慮したパラメータとしては、例えば、持続性 (persistence) を次のように定義することができる⁴⁾。

$$p(t) = v(t) / \{ 1 + d\theta(t) \} \quad (\text{式3})$$

ここで、 $v(t)$ は(式1)、 $d\theta(t)$ は(式2)による。

ただし、これらのパラメータはいずれも時系列 (時刻 t の関数) であり、時々刻々の運動性を表現するものである。ある粒子の観測時間内全体にわたる運動性をいかに表現するような定量化を行うには、これらの時系列の統計量をとるなどの処理が必要となる。

本事例では、各点の移動を追跡し、各粒子の運動範囲を自動認識した。図3に、この方法による追跡結果を示す。各粒子の一定時間内の運動範囲が円で示されている。例えばこの円の半径によって運動範囲を定量化することができる。図3のように、顆粒の運動範囲を内包する最小円の半径が比較的大きいもの (白塗り矢印) は、熱ゆらぎとは明確に区別される能動運動であり、逆に比較的小さな円内に運動範囲が限定されているもの (白枠黒塗り矢印) は熱ゆらぎ運動であると推定される。

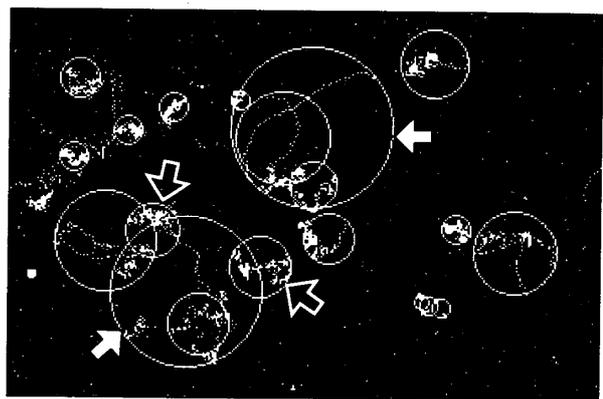


図3. 重心点の追跡と運動範囲の検出結果

3. ひも状物体の運動 ～事例2: in vitro 滑り運動系でのアクチンフィラメントの運動解析～

アクチンフィラメント¹⁾⁻³⁾¹⁶⁾⁻²⁹⁾の滑り運動再構成系 (in vitro motility assay)¹⁾⁻³⁾では、カバーガラス上に平面固定されたミオシンの上を、ひも状のアクチンフィラメントがくねくねと変形しながら一方向に滑

り運動する様子が、蛍光顕微鏡⁷⁾によって観察される(図4)。図4に示した本件の解析対象は、ウサギ骨格筋のアクチンフィラメントの滑り運動である。アクチンフィラメント自体は、太さ約 $0.01\mu\text{m}$ (長さは、数～十数 μm)と光学顕微鏡の分解能以下であるが、蛍光標識¹⁵⁾することで、その形を蛍光像として観察できる。アクチンフィラメントの蛍光像は、本件の計測系ではデジタル画像で数dotの幅をもつが、分解能以下の形状を無視すれば、本件は、幅のない紐が変形しながら線素方向へ滑る運動とみなすことができる。

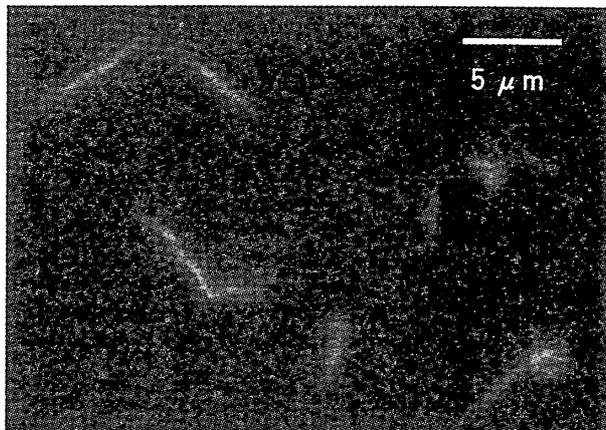


図4. 滑り運動するアクチンフィラメント

この滑り運動再構成系は、様々な目的の研究に利用されており^{18)–26)}、これまでに、滑り運動の速度がアクチンではなくミオシンの種類や状態に依存することや、滑り速度はフィラメント長に依存しないという興味深い事実が報告されている¹⁾。この運動の解析が、アクチン-ミオシン相互作用の機構解明に重要な情報を与えることから、運動解析の方法論に関する報告も多い¹⁸⁾¹⁹⁾。

しかし、これまでの報告の殆どは、滑り運動の速度のみを問題にしており、滑り運動中のフィラメントの形状変化を考慮または形状変化そのものに着目した解析例は少ない。ここでは、まず、ひも状物体が変形することによって生ずる、滑り速度計測上の問題点を指摘し、次に、フィラメントの形状変化をも考慮した解析を実現するために筆者らが採った2つの解析方法を紹介する。

変形するひも状物体の速度を計測する場合、前節で述べた重心の移動速度の計測における問題点に加え、重心座標自体の決定方法が問題となる。通常の画像解析システムでは重心座標 (x, y) を、次の(式4)のように算出するのが一般的である。

$$(x, y) = (\langle x_i \rangle, \langle y_i \rangle) \quad (\text{式4})$$

ここで、 (x_i, y_i) は2値化された対象物内の全画素の座標値であり、 $\langle \rangle$ はそれらの平均値を表す。前節で述べた1点の運動のように、対象物の方向性や変形が問題にならない場合はよいが、本件の場合、ひも状の物体像の2値化または細線化像から、通常のように(式4)の定義に従って重心を算出すると、次のような問題を含むことになる。例えば、ひも状の対象物が全体として弧のように屈曲している場合、重心は、対象物から曲率中心の方向に外れた位置となり、物体が曲率円に沿って滑り運動した場合の重心の移動ベクトルの大きさは、線素方向の移動距離よりも小さくなる。したがって、算出速度も滑り運動の速度よりも小さな値となる¹⁹⁾。この測定値の差は対象物の変形に関する情報がない限り補正できない。

そこで、ひも状物体の重心として、ひもの中央の点(線重心)を用いることが考えられる。線重心 (x, y) は、ひもを構成する n 個の点を端点から端点まで順に $1, 2, \dots, n$ とすると、次式で定義される。

$$(x, y) = (x_{n/2}, y_{n/2}) \quad (\text{式5})$$

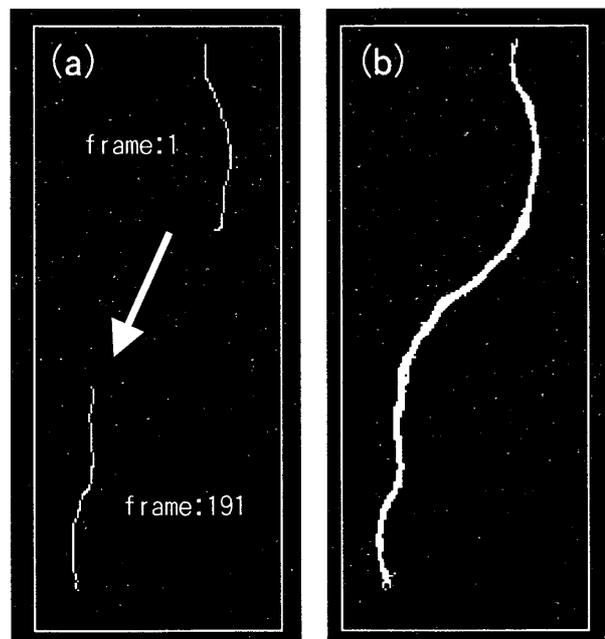


図5. アクチンフィラメントの細線画像
(a) 細線, (b) 191frame, 約6.3秒間の重畳像

さらに、この線重心の移動距離を算出する際に、直線距離でなく軌跡軸に沿った移動距離を計測すれば、前節で問題にした算出速度の Δt 依存の問題も緩和される。図5は、アクチンフィラメントの蛍光像を2値化・細線化した像である。図5(a)は約6.3秒隔てた2つの細線像であり、(b)は191 frame (約6.3秒間)の細線像の重ね合わせ (superimpose) である。例えば、図5(b)のような重ね合わせの像から、あらかじめ滑り運動の軌跡を定めておけば、(式5)による線重心の、軌跡に沿った移動距離を算出できる。

しかし、実際のアクチンフィラメントの運動では、詳細な解析の結果から、レール上を動く列車のようにフィラメントが厳密に軌跡に沿って滑るわけではないことがわかってきた¹⁸⁾²²⁾²³⁾。これは、(式5)の線重心と、フィラメント上の他の点(例えば、端点 (x_1, y_1) または (x_n, y_n))では、時々刻々の移動距離に差があることを意味する。つまり、ひと続きのひも状物体であっても、その移動速度は、局所的に異なっており、一意的には決定できない。さらに、これまで多くの考察の中で滑り運動中のアクチンフィラメントの全長一定性が仮定されていたにも関わらず、最新の研究²³⁾²⁹⁾により、フィラメントの伸縮性が報告され、長さを一定とする根拠は失われた。ひも状物体の変形に、曲率の変化に加えて伸縮を許す場合、運動方向を線素方向に限定したとしても、速度と変形は相補的 (complemental) な量となり、特定の特徴点(例えば、重心点や先端または末端)の移動が、滑り運動によるものか変形(伸縮)によるものかは区別できない¹⁸⁾。つまり、速度と変形(伸縮)のうちの片方だけを厳密に計測することは、そもそも不可能である。

アクチンフィラメントの滑り速度は、生化学的あるいは生物物理学的観点から重要であるが、フィラメントの伸縮や変形も、滑り運動中の性質を知るためには同時に計測すべき重要な情報であるといえる¹⁾¹⁸⁾²³⁾。筆者らは、速度と伸縮が相補性 (complementarity) を有することを考慮し、次の(a) (b)に記すような2つの異なるアプローチで滑り運動の動画解析を行った。

(a) モデルのあてはめによる運動の追跡

1つは、フィラメントの形状をモデル化²⁶⁾³⁰⁾³¹⁾し、このモデルを画像に当てはめること (matching) によってフィラメント像を追跡し、移動と変形を同時計測するアプローチである。フィラメントの形状モデルは、フィラメントを長さに応じた数本の線分からなる「折れ線モデル」とし、実際の画像上で折れ線の節点

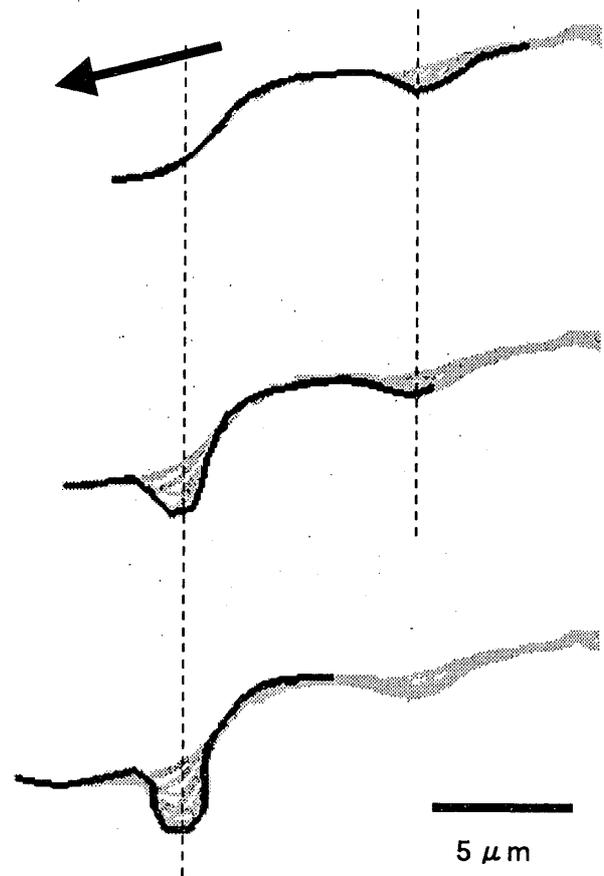


図6. 折れ線モデルのあてはめによる自動追跡

部分であてはめを行って追跡した。蛍光像はS/N比が小さく、開発したシステムでは、厳密な伸縮は計測できないが、自動追跡により屈曲変形と移動を同時に計測することが可能になった。図6は、このシステムで抽出したデータをCGで再現したものである。図6は、滑り運動中に屈曲が生じ、フィラメントの後方が屈曲した軌跡に沿って変形する様子を示している。このシステムにより、フィラメントの弾性的性質 (elasticity) およびcomplianceを示唆する解析結果を得ることができた。

(b) まだらアクチンによる局所変形の解析

アクチンフィラメントの滑り運動を、速度だけでなく、変形や伸縮も含めて解析するために筆者らが採ったもう1つのアプローチは、実験系そのものを改良してアクチンフィラメント像の特徴点を増やす方法である。

従来の滑り運動系と同じ条件下でアクチンフィラメントの染色法のみを変えて、まだら模様蛍光指標することで、フィラメントの両端点以外に内部にも追跡

可能な特徴点を設けるというアイデアである。図7に、「まだらアクチン」²³⁾²⁵⁾の蛍光像を示す。図7は、1本のアクチンフィラメントに3箇所の蛍光染色部位を設けた結果、6箇所の特徴点(P1~P6で示す)が得られた例を示している。まだらアクチンを用いることにより、局所的な伸縮や変形の解析が可能となった²⁴⁾²⁵⁾。

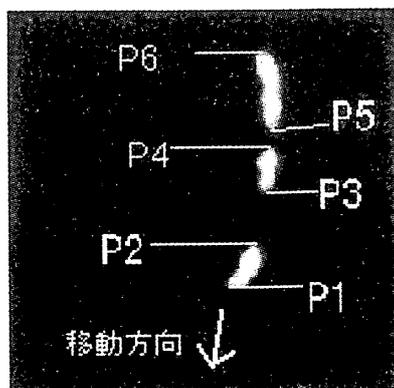


図7. まだらアクチンの蛍光像の例

以上に、ひも状物体の滑り運動の解析法の例としてアクチンフィラメントの滑り運動の場合を紹介したが、この例のように、生体材料の運動解析には、解析の目的と生体運動の性質に応じた個別の解析法を必要とする場合が多い。

4. 球面上を伝播する波面 ~事例3: メダカ初期発生卵の律動性収縮運動の解析~

前述のように光学顕微鏡観測技術の向上はめざましいものがあり、蛍光色素を利用して光学顕微鏡の分解能を超えた高分子の計測はおろか一分子の計測まで可能となった。しかし、顕微鏡像は、あくまで、実際にはある高さを持った3次元の観察対象物の2次元写像でしかない。したがって、もとの3次元情報を得るためには、一般的には、断層像の3次元再構築などの技術が必要となる⁹⁾。

しかし、ここでは、顕微鏡像によるメダカ卵の律動性収縮運動の解析を例にとり、一見3次元情報を得るために特殊な技術が必要であると思われる対象について、従来の顕微鏡像の2次元写像でも十分有効なデータを取り得ることを紹介する。

(a) 律動性収縮運動

メダカ (*Oryzias latipes*) 卵は不等割卵で、多量の卵黄を有する。受精後、動物極において細胞が局所的に分裂を始め、細胞数が数千に達した頃に胚盤葉が卵

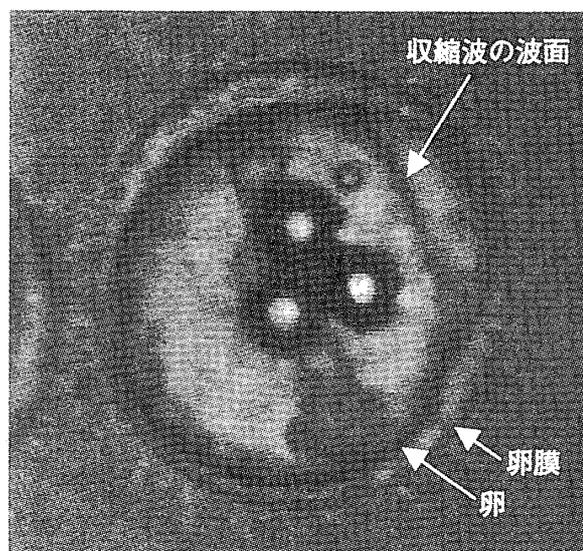


図8. 律動性収縮運動しているメダカ卵

黄をつつみ込んでいく。胚盤葉が卵の1/3に達した後、卵全体にわたるリズムカルな収縮運動が観察される。この現象は律動性収縮運動と呼ばれ、メダカの他に約20種類の魚類の卵で報告されている³²⁾。この律動性収縮運動は、少なくともメダカにおいては胚の最外細胞層の収縮運動であることがわかっている³³⁾。

(b) 計測および解析の方法

メダカ卵は、自然受精したものを採卵してシャーレ上に置き、倍率4倍の対物レンズを用いた明視野の位相差顕微鏡⁹⁾で観察した(図8)。この観察像を、CCDカメラを通して0.5 frame/secでタイムラプスビデオ撮影した。この、ビデオ映像上に写像された卵の平面内の動きを解析するため、パソコンにビデオ像を取り込み、図9のように、円近似した卵幕の中心からx, y軸へ平行に引いた直線と卵表面の交点をそれぞれa, b, c, dとして、点a, b, c, dの位置の4秒毎の時間変化を計測した。図10に、点aの計測結果の一部を示す。

これらの結果から律動性収縮運動とは卵表面の収縮運動であること、および収縮運動が一定の周期つまりリズムを持っていることが改めて確認された。周期は発生ステージによって異なるが、およそ70~80秒であった。さらにa, b, c, d点への波の到達速度の違いからその収縮波の速度は約40 $\mu\text{m}/\text{sec}$ であることがわかった³⁴⁾。

(c) 球面上を伝播する波面

以上の解析方法では、観察の対象である3次元の物

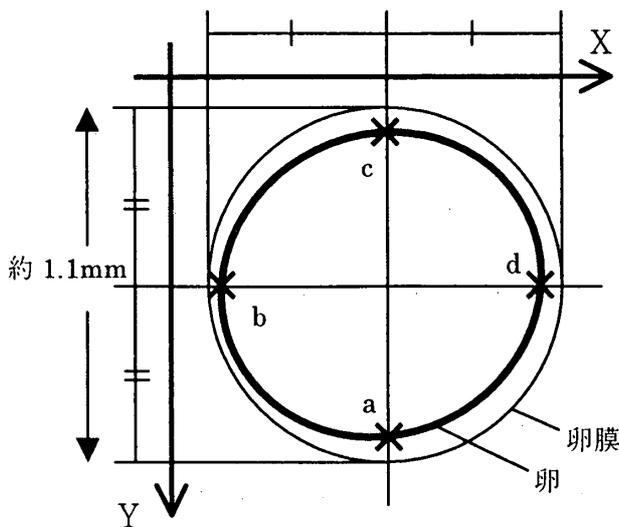


図9. メダカ卵の測定点 (図8参照)

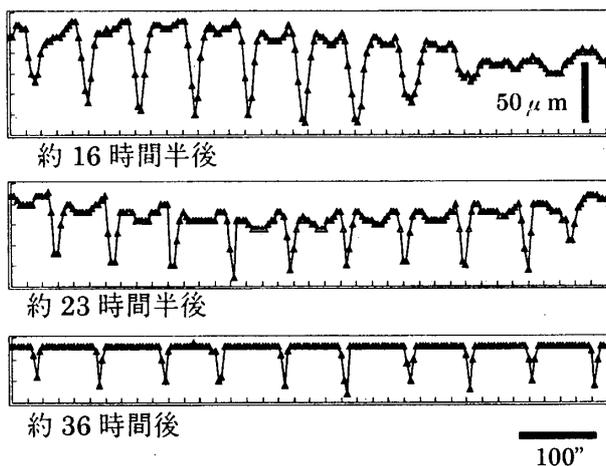


図10. 点aのy座標値の時間変化 (図9参照)

体から1次元の時系列情報を得たことになる。この方法は、律動性収縮運動という複雑な現象を解析するのに非常に有効な方法の1つである。しかし、対象であるメダカ卵が高さを持った3次元の物体であり、変形が球面上の収縮波であるということを考えると、この方法では画像上の情報が十分活用されていないともいえる。以下のことは卵の形を球と近似することによって可能となる。球面上ということは、すなわち2次元面上の運動である。このことにより、顕微鏡像が3次元物体の2次元写像でしかないという問題を、この場合克服できる。もともと球面上の2次元の現象が顕微鏡像では円形に写像されているだけで、顕微鏡像だからといってこの場合次元の欠落は起こっていないので

ある。ゆえに、もともとの球面上の情報を得ることが可能である。

前述の1次元の時系列情報を得た計測方法では、収縮波の波面は4つの測定点での座標値の増減、つまり卵の平面写像の膨らみもしくは凹みという形で捕らえられた(図9)。この方法で計測されたリズム(図10)の時間間隔は収縮波の真の速度を表すものではない。しかし、幸いなことに実際のビデオ画像上で、収縮波の波面が影状の輝度変化として観察される(図8)ため、この平面写像された顕微鏡像上の波面の位置情報から、律動性収縮運動の波面の球体上での位置を知ることが可能である。あたかも、人工衛星から地上を撮影した2次元像から地球という球体上の地図を再構築できるようにである。(b)で述べたような測定結果(図10)についても、平面写像された顕微鏡像を、実際には高さを持っている3次元の卵の球面上へ写像し直すことを行えば、より現実に近い波面速度などを算出でき、より正確な生体運動の解析が可能になる。

5. おわりに

生体運動の解析を3例示し、その方法論と問題点および筆者らのアプローチを述べた。これまで、情報工学の立場からロボットビジョンや物体認識を目標とした動画解析の手法が研究され多くの成果を上げているが、生体特有の変形やゆらぎを伴った運動の動画解析は、これからの研究課題であるといえる。また、本稿で紹介した3つのビデオ顕微鏡に加え、様々な顕微鏡で、生体の運動を捕らえる試みが行われている。しかし、生理条件を満たす溶液中での運動の様子を高速撮影して動画として捕らえることは難しく、分子レベルの素反応過程のダイナミックな映像化は未だにできていない。今後、AFM(atomic force microscopy: 原子間力顕微鏡)、STM(scanning tunneling microscopy: 走査トンネル顕微鏡)、電子顕微鏡、などでも生体運動が捕らえられるようになれば、これまで知り得なかった生体運動の機構が直接観察可能になると予想される。その際にも、ビデオ画像による生体運動のデジタル動画解析は、定性的および定量的に生体機構を解明するために不可欠な技術となると思われる。

筆者らは、今後も、様々な画像に対して目的に応じた個別の生体運動解析を目指すと同時に、それらに共通の解析法を見出して一般化することも目標としてゆきたい。

註:

[註1] 事例1の実験およびビデオ画像は、名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻・森松美紀、藤目杉江らによる。ここに、両氏ならびに関係各氏に心より謝意を表します。

[註2] 事例1~3とも、動画像のコンピュータ解析には、NEC製パーソナルコンピュータPC-9821Xnおよび、(株)ライブラリー製動画像解析システム「ひまわり60」を用い、解析アルゴリズムは、専用のC言語ライブラリとMicrosoft C/C++Ver.7を用いて実現した。

参考文献

- 1) 御橋廣眞:「筋肉の動きを探る」,パリティ物理学コース,丸善,(1994)
- 2) 大沢文夫:「講座:生物物理」,丸善,(1998)
- 3) 石渡信一 編:「生体分子モーターの仕組み」,シリーズ・ニューバイオフィジックス-4巻,共立出版,(1997)
- 4) D. R. Soll, D. Wessels (ed.): MOTION ANALYSIS of LIVING CELLS, WILEY-LISS, New York, (1998)
- 5) 神谷律,丸山工作:「細胞の運動」,培風館,(1992)
- 6) 宝谷統一,神谷律 編:「細胞のかたちと運動」,シリーズ・ニューバイオフィジックスII-5巻,共立出版,(2000)
- 7) 宝谷統一,木下一彦 編:「限界を超える生物顕微鏡」,測定法シリーズ21,日本分光学会出版センター,(1991)
- 8) 柳田敏雄,石渡信一 編「ナノピコスペースのイメージング」,吉岡書店,(1997)
- 9) 石川春律,鈴木和男,中西守,猪飼篤 編:「見る技術 分子・細胞のバイオイメージング」,共立出版,(1998)
- 10) 曾我部正博,白倉治郎 編:「バイオイメージング」,シリーズ・ニューバイオフィジックス-7巻,共立出版,(1998)
- 11) 三池秀敏,古賀和利 編著:「パソコンによる動画像処理」,森北出版,(1993)
- 12) 河田聡,南茂夫 編著:「科学計測のための画像データ処理」,CQ出版,(1994)
- 13) K.R.Castleman: DIGITAL IMAGE PROCESSING, Prentice Hall, New Jersey (1996)
- 14) 高木幹雄,鳥脇純一郎,田村秀行 編:「画像処理アルゴリズムの最新動向」,新技術コミュニケーションズ,O plus E別冊,(1986)
- 15) 藤田広志,原武史:「Macでできる医用画像処理マニュアル」,医療科学社,INNER VISION臨時増刊号vol.13, No.4,(1998)
- 16) 木下一彦,御橋廣眞 編:「蛍光測定」,測定法シリーズ3,日本分光学会出版センター,(1983)
- 17) S.Higashi-Fujime, T.Hozumi et al.: The fastest actin-based motor protein from the green algae, Chara, and its distinct mode of interaction with actin, FEBS Let., Vol.375, pp.151-154,(1995)
- 18) S.Hasegawa, K.Mihashi: Analysis of Sliding Actin Filaments Utilizing a Novel Method of Spatiotemporal Color Patterns, FORMA, Vol.15, No.4, pp.377-391,(2000)
- 19) D.Uttenweiler, C.Veigel, R.Steubing, C.Götz, S.Mann, H.Haussecker, B.Jähne, R.H.A.Fink: Motion Determination in Actin Filament Fluorescence Images with a Spatio-Temporal Orientation Analysis Method, Biophys.J, Vol.78, No.5, pp.2709-2715,(2000)
- 20) T.Oda, Y.Shikata, K.Mihashi: Mutual sensitization of ATP and GTP in driving F-actin on the surface-fixed H-meromyosin, Biophys. Chem. 61(2-3), pp.63-72,(1996)
- 21) Y.Shikata, A.Shikata, R.Shimo, H.Takada, C.Kato, M.Ito, T.Oda, K.Mihashi: Statistical Analysis on the Angle Fluctuation of the Direction of a Single F-actin Sliding on the Surface-fixed H-meromyosin, Proc. Japan Acad., 70, Ser.B, pp.117-120,(1994)
- 22) K.Hatori, H.Honda, K.Matsuno: ATP-dependent fluctuations of single actin filaments in vitro, Biophys. Chem. 58(3) pp.267-272,(1996)
- 23) H.Honda, K.Hatori, Y.Igarashi, K.Shimada, K.Matsuno: Contractile and protractile coordination within an actin filament sliding on myosin molecules, Biophys. Chem. 80(2) pp.139-143,(1999)
- 24) R.Shimo, S.Hasegawa, K.Mihashi: Fluctuation in the Length of Actin Filament Specific to the Sliding Movement, The 7th JST International Symposium -Molecular Process and Biosystems-

- p.80, Poster 2-3-8, Feb 24, (1999), Tokyo Japan,
(abstract)
- 25) 下理恵子, 長谷川聡, 外山裕章, 守本英一, 御橋廣眞: 滑り運動するまだらアクチンの弾性体としての特徴, 生物物理学会第37回年会講演予稿集, S192, (1999)
- 26) S.Hasegawa, R.Shimo, K.Mihashi: Analysis and Simulation of Sliding F-actin by a Simple Geometric Model, The 7th JST International Symposium -Molecular Process and Biosystems-, p.81, Poster 2-3-9, Feb 25, (1999), Tokyo Japan, (abstract)
- 27) 御橋廣眞: アクチンのトレッドミリング, 生物物理, Vol.25, No.2, pp.75-83, (1985)
- 28) 鈴木直哉, 御橋廣眞: アクチンフィラメントの動的極性構造, 生物物理, Vol.30, No.5, pp.220-226, (1990)
- 29) 若林克三, 樋口秀男, 武澤康範: アクチンフィラメントの伸びと筋収縮, 日本物理学会誌, Vol.52, No.8, pp.599-605, (1997)
- 30) 長谷川聡, 御橋廣眞: アクチンフィラメント滑り運動の動画像解析とモデル化, 情報処理学会第53回全国大会, 講演論文集(2), p.133-134, (1996)
- 31) 長谷川聡, 下理恵子, 御橋廣眞: 滑り運動するFアクチンの速度と形状変化の解析, 生物物理学会 第38回年会講演予稿集, S57, 1H0900, (2000)
- 32) T.Yamamoto: Medaka (killifish) - Biology and Strains. Keigaku Publ. Tokyo, 365, (1975)
- 33) B.Barber, M.J.B. Da Cruz, J. DeLeon, R.A. Fluck, M.P. Hasenfeld, L.A. Unis: Pacemaker region in a rhythmically contracting embryonic epithelium, the enveloping layer of *Oryzias latipes*, a teleost. J. Exp. Zool. 242, pp.35-42, (1987)
- 34) 長谷川昌広, 御橋廣眞, 長谷川勝夫, 四方義啓: メダカ初期胚の被覆層を伝播するパルス波, 形の科学会報, 11巻, 3号, pp.40-41, (1996)