

球形オルガネラのサイズ分布を電子顕微鏡写真から推定するためのコンピュータプログラム

洲崎 敏伸*・安藤 元紀**

*広島大学総合科学部人間行動研究講座

**高知医科大学第2生理学講座

(1992年9月1日受理)

A computer program for estimating size distribution of spherical organelles from electron micrographs

Toshinobu SUZAKI* and Motonori ANDO**

Abstract : Size distributions of intracellular organelles in an ultra-thin section are usually distorted when the section thickness is not negligible. A computer program is developed here to estimate true size distributions of spherical organelles from transmission electron micrographs of ultra-thin sections. The method is applied to determine size distributions of chromaffin granules isolated from bovine adrenal medullary cells as a basis for further physiological measurements.

Key words : stereology, electron microscopy, chromaffin granule

はじめに

細胞の内部にある様々な構造や小器官の形状を研究しようとする場合、電子顕微鏡を用いて細胞の超薄切片を観察する方法が最も一般的である。ところが、この電子顕微鏡で観察される構造のプロファイルは、もともとの細胞構造のごく薄いスライスにすぎないので、その構造の全体像を知るためには、連続切片を重ね合わせて3次元構造を再構築する必要がある。しかし、観察する構造が球形である場合には、1枚の切片像を測定し、簡単な計算を行うことにより、その構造の真の直径の分布を推定することが可能である。

著者らは、細胞内オルガネラの有する電気生理学的インピーダンス特性を誘電解析法 (Irimajiri et al., 1991) により測定しているが、これにはデータ解析にさきだち、対象となるオルガネラの大きさを正確に測定しておくことが必要である。最近、副腎髄質クロマフィン顆粒のインピーダンス特性の解析を行ったが、この際に、電子顕微鏡用切片上で測定された直径の分布ヒストグラムから顆粒の真の直径分布を推定するためのコンピュータプログラムを開発した。ここでは、この方法に用いられたステレオロジー理論を概説し、プログラムの全リストを提示する。

ステレオロジー理論

一定の厚さの切片上で観察された球形粒子の直径分布より、真の直径分布を推定するためのステレオロジーの理論は、既に報告されている (Goldsmith, 1967; 諏訪, 1977)。ここでは開発したプログラムに即し、計算の概略を示す。

【記号について】

$g_i (i=1,2, \dots, n)$: クラス(i)に属する球の切片上での実測直径の相対頻度

$f_i (i=1,2, \dots, n)$: クラス(i)に属する球の真の直径の相対頻度

t : 切片の厚さ

n : クラスの数

h : クラスの間隔

m : 球の真の平均直径

g_i と f_i との関係は、次のようになることが知られている (Goldsmith, 1967)。

$$g_i = \frac{h}{t+m} \sum_{j=i}^n \alpha_{ij} f_j$$

ここで、

$$h_i = \frac{h}{t+m} f_i \quad 1)$$

と定義すると、

$$g_i = \sum_{j=i}^n \alpha_{ij} h_j$$

あるいは、

$$[G] = [H][\alpha_{ij}] \quad 2)$$

ここで、

$$[G] = [g_1, g_2, \dots, g_n]$$

$$[H] = [h_1, h_2, \dots, h_n]$$

$$\alpha_{ii} = \frac{t}{h} + \sqrt{i - \frac{3}{4}} \quad (i=1,2, \dots, n) \quad 3)$$

$$\alpha_{ij} = \sqrt{(j - \frac{1}{2})^2 - (i-1)^2} - \sqrt{(j - \frac{1}{2})^2 - i^2} \quad (j=i+1, i+2, \dots, n) \quad 4)$$

2)式を書き換えると、

$$[H] = [G][\beta_{ij}] \quad 5)$$

ここで、 $[\beta_{ij}]$ は $[\alpha_{ij}]$ の逆行列である。5)式の関係を用いれば測定された直径分布 $[G]$ より、 $[H]$ が求められる。1)式からわかるように $[H]$ に定数をかけたものが、球の真の直径分布 $[F]$ になるので、 $\sum f_i = 1$ となるように定数を求めると、 $[F]$ が算出される。

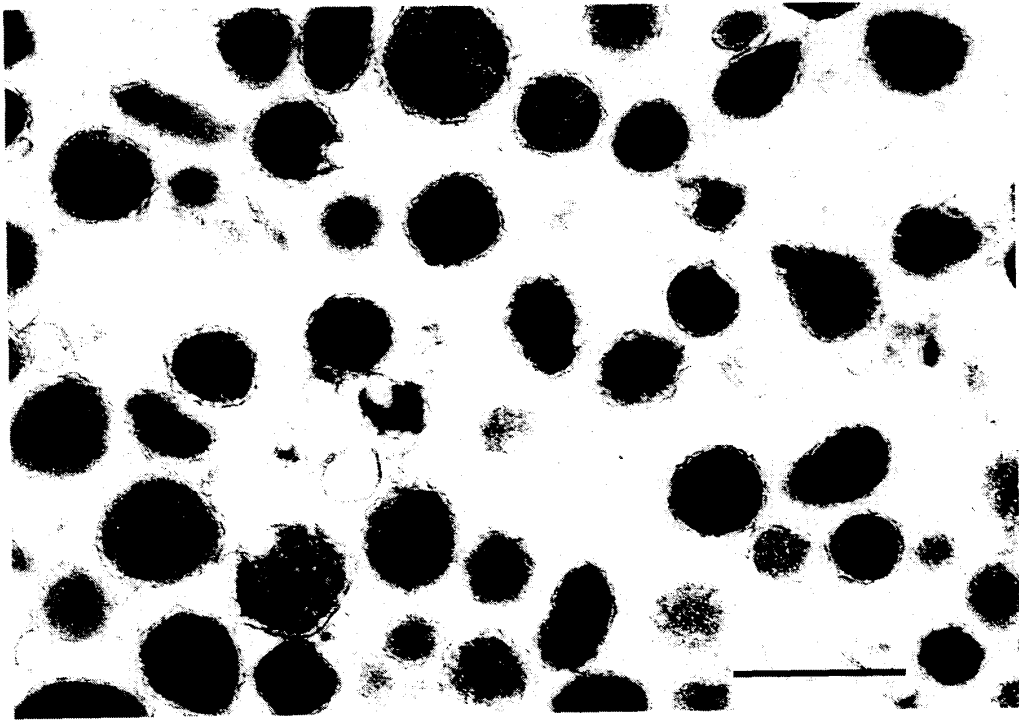


図1 単離されたウシ副腎髄質クロマフィン顆粒の透過型電子顕微鏡写真。顆粒の大部分はエピネフィリンを含むといわれている。×38,800. Bar=0.5 μm.

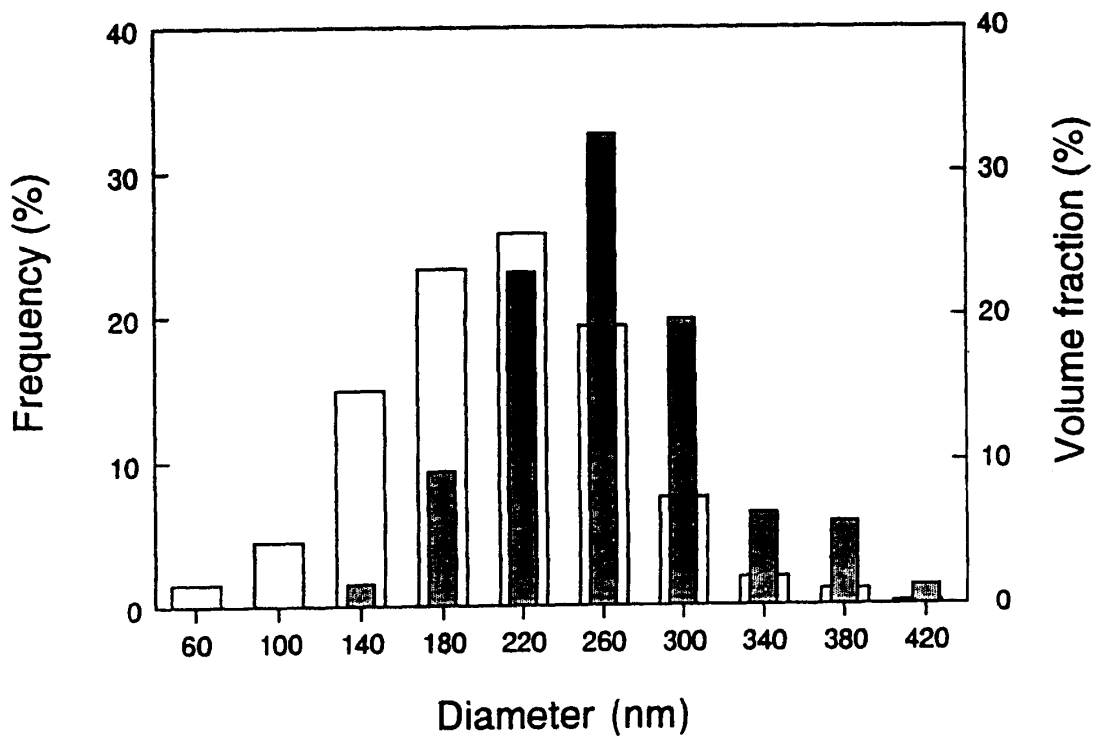


図2 クロマフィン顆粒の直径分布。電子顕微鏡切片の写真から1200個の顆粒を測定して得られた見かけの直径の相対頻度分布(白抜き)と、ステレオロジーにより補正され、体積の出現頻度として正規化された真の直径の度数分布(灰色塗り)。

計算手順と結果の表示

このプログラムで最も時間がかかるのは、2) 式に用いられる n 次行列 $[a_{ij}]$ と、その逆行列 $[\beta_{ij}]$ を計算する部分である。3)、4) 式からわかるように、 $[a_{ij}]$ を計算するために必要な数値は、行列の次数 n と、切片の厚さとクラスの間隔の比 t/h である。したがって、 $[a_{ij}]$ と $[\beta_{ij}]$ は一度作成しておけば、切片の厚さかクラス間隔が変わらない限り、同じものが共通して使用できる。行列の次数 n は、実際の測定に用いたクラス数を上回るものであればどんな数値でもよく、計算では行列の必要な次数の部分のみが使われる。このような理由から、プログラムは、次の3つの部分に分割して作成された(付表プログラムリスト参照)。

プログラム 1) メインプログラム(プログラム名 STEREO1. BAS)

5) 式を用いて、真の直径分布を算出し、結果を出力する。

プログラム 2) 行列・逆行列の計算(プログラム名 STEREO2. BAS)

$[a_{ij}]$ と、その逆行列 $[\beta_{ij}]$ を計算する。

プログラム 3) データファイル作成(プログラム名 STEREO3. BAS)

実測データをファイル化し、計算に使用できるようにする。

プログラム 1) の出力として、以下の計算結果が表形式で表示される。

[G] …切片上の直径の実測分布(正規化された個数の分布)

[GV] …切片上の直径の実測分布(正規化された体積の分布)

[F] …実際の直径分布の推定値(正規化された個数の分布)

[FV] …実際の直径分布の推定値(正規化された体積の分布)

実際の計算例

副腎髄質細胞は、エピネフィリンやノルエピネフィリンを含むクロマフィン顆粒と呼ばれる多くの分泌顆粒を含む。図1に示すように、これらの顆粒はほぼ球形とみなせる形状を呈しており、単離・精製が可能であるので、オルガネラ膜及び内相の電気生理学的特徴を解析するのに適した材料である。このような電子顕微鏡切片像(切片の厚さは約100 nm)より顆粒の直径を計測した。その相対出現頻度をヒストグラムに示したのが、図2(白抜きグラフ)であり、切片上での顆粒の見かけの平均直径は、 $0.21 \mu\text{m}$ であった。このデータを上記の方法により計算機処理し、得られた真の直径分布を体積の出現頻度として正規化すると、そのヒストグラム(図2、灰色塗りグラフ)は、元々の見かけのヒストグラムとは著しく異なっており、その平均直径は $0.26 \mu\text{m}$ であった。

参 考 文 献

Irimajiri, A., Suzaki, T., Asami, K. and Hanai, T. 1991. Dielectric modeling of biological cells. Models and algorithm. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 69, 421-438.

Goldsmith, P. L., 1967. The calculation of true particle size distributions from the sizes observed in a thin section. Brit. J. Appl. Phys., 18, 813-830.

諏訪紀夫、1977。「定量形態学」岩波書店。

付表：プログラムリスト

```

1000
1010 切片の厚さを考慮した電顕的ステレオロジー
1020 (Part 1: 真の直径分布の計算)
1040
1050 SAVE "STEREO1.BAS"
1070
1080 初期化
1090
1100 DEFDBL A-G,P-Z 倍精度実数型変数の定義
1110 CONSOLE 0,24,0,1 テキスト画面初期化
1120 SCREEN 3,0,0,1 グラフィック画面初期化
1130 VIEW (0,0)-(639,399) グラフィック領域設定
1140 COLOR 7,0,0,7,2 16色モード設定
1160 COLOR=(1,&HFFF) 表示色1の定義
1170 COLOR=(2,&HAC2) 表示色2の定義
1180 COLOR=(3,&H800) 表示色3の定義
1190 WIDTH 80,25 25行モード設定
1200 DIM A(30,30),B(30,30) 行列型変数の定義
1210 DIM C(30,30),AMF$(50),AMN(50),AMTH(50)
1220 DIM Y(30,30),G(30),F(30),GV(30),FV(30)
1230 DIM NTC$(20)
1240 BLK$=STRING$(61," ") ブランク行のデータ
1250 CLS 3 画面クリア
1260
1270 メインプログラム
1280
1300 GOSUB *NOTICE プログラムの説明
1310 GOSUB *D.LOAD データ読み込み
1320 GOSUB *MUL2 [G]×[B]→[F]
1330 GOSUB *D.PRINT データの出力
1340 GOTO 1300
1390
1400 プログラムの解説表示
1410
1420 *NOTICE
1440 CLS 3: WIDTH 80,20
1450 LINE (67, 7)-(573,308),2,BF
1460 LINE (70,10)-(570,305),3,BF
1470 LINE (67,47)-(573,49),2,BF
1480 LINE (67,316)-(330,383),2,BF
1490 LINE (70,319)-(327,380),3,BF
1500 RESTORE 1760
1510 FOR I=1 TO 18: READ NTC$(I)
1520 LOCATE 10,I: PRINT NTC$(I): NEXT I
1530 K$=INKEY$: IF K$="" THEN GOTO 1530
1540 IF ASC(K$)=27 THEN SYSTEM
1550 GOTO 1940
1760 DATA "電顕的ステレオロジープログラム"
1761 DATA " [STEREO1] NOV. 9, 1990 "
1780 DATA " このプログラムは、計測された球形粒"
1781 DATA "子の直径分布より、切片の厚みを考慮し"
1782 DATA "て、真の直径分布を推定します。"
1810 DATA " 計算には、実測の度数分布のデータと"
1811 DATA "球に由来する切片の直径を確率的に規定"
1812 DATA "する行列 (α行列) が必要です。α行列"
1813 DATA "は切片の厚さ (t) と 度数分布のランク"
1831 DATA "幅 (h) の比 (t/h) により規定される行"
1832 DATA "列で、実測データに適合する行列が存在"
1861 DATA "しない場合には、α行列作成プログラム"
1862 DATA "[STEREO2]が起動します。[STEREO3]"
1863 DATA "は、実測データをファイル化します。"
1864 DATA "
1910 DATA "プログラムの説明→リターンキー"
1920 DATA "プログラムの終了→ESCキー"
1930 DATA "プログラムの実行→その他のキー"
1940 WIDTH 80,25
1950 RETURN
1970
1980 実測データの1次行列 G への取り込み
1990
2000 *D.LOAD
2010 CLS 3
2020 FILES "*.DAT": PRINT

```

```

2030 PRINT "データファイル名?"
2040 PRINT "新しいデータファイルを作成"
2050 PRINT "する場合はリターンキーを押"
2051 PRINT "して下さい。"
2060 PRINT: INPUT " ";FD$
2070 IF FD$="" THEN RUN "STEREO3.BAS"
2080 OPEN FD$+".DAT" FOR INPUT AS #1
2090 INPUT #1, ND
2100 INPUT #1, TD
2110 INPUT #1, HD
2120 TN=0
2130 FOR I=1 TO ND: INPUT #1, G(I)
2135 TN=TN+G(I): NEXT I: CLOSE #1
2140 FOR I=1 TO ND: G(I)=G(I)/TN
2145 NEXT I: CLOSE #1
2150 CLS: PRINT "<DATA FILE: ";FD$;".DAT>"
2160 PRINT "NUMBER OF CLASSES (N): ";ND
2170 PRINT "SECTION THICKNESS (T): ";
2180 PRINT USING "##.##";TD;
2185 PRINT " μm"
2190 PRINT "CLASS INTERVAL (H): ";
2200 PRINT USING "##.##";HD;
2205 PRINT " μm"
2210 PRINT "T/H: ";
2220 PRINT USING "##.##";TD/HD
2230
2240 α-マトリクス A とその逆行列 B のデータ
2245 の読み込み
2250
2260 OPEN "ALPHA.DSK" FOR INPUT AS #1
2270 INPUT #1, NA
2280 FOR I=1 TO NA
2290 INPUT #1, NFA$(I),NFN(I),NFTH(I)
2295 NEXT I: CLOSE #1
2300 PRINT
2310 NFA$=""
2320 FOR I=1 TO NA: T1=TD/HD
2325 N1=NFTH(I)+.01: N2=NFTH(I)-.01
2330 IF N1>T1 AND N2<T1 THEN ELSE 2360
2340 IF NFN(I)>N THEN ELSE GOTO 2360
2350 NFA$=NFA$(I)
2360 NEXT I
2370 IF NFA$="" THEN ELSE 2430
2380 PRINT: PRINT "該当するα-行列のデータ";
2385 PRINT "がありません"
2390 PRINT "[STEREO2.BAS]を起動します。"
2400 FOR I=1 TO 5000: NEXT I
2410 RUN "STEREO2.BAS"
2430 PRINT
2435 PRINT "該当するα-行列がありました。"
2440 OPEN NFA$+".ALP" FOR INPUT AS #1
2445 INPUT #1, N,TH
2450 PRINT:PRINT "<ALPHA MATRIX ";NFA$;
2455 PRINT "> を使用します。"
2460 PRINT "NUMBER OF CLASSES (N): ";N
2470 PRINT "T/H: ";
2480 PRINT USING "##.##";TH
2490 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
2500 INPUT #1, A(I,J): NEXT J: NEXT I
2510 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
2515 Y(I,J)=A(I,J): NEXT J: NEXT I
2520 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
2530 INPUT #1, B(I,J): NEXT J: NEXT I
2535 CLOSE #1
2540 RETURN
2560
2570 計算の結果 F の表示
2580
2590 *D.PRINT
2600 CLS: FOR I=1 TO N
2610 F(I)=F(I)*(DM+TD)/HD: NEXT I
2620 TF=0: FOR I=1 TO N
2630 IF F(I)<0 THEN F(I)=0

```

```

2640 TF=TF+F(I): NEXT I
2650 FOR I=1 TO N: F(I)=F(I)/TF: NEXT I
2660 TFV=0: TGV=0
2670 FOR I=1 TO N: FV(I)=F(I)*(I*.05-.025)^3
2675 TFV=TFV+(FV(I))
2680 GV(I)=G(I)*(I*.05-.025)^3
2685 TGV=TGV+(GV(I)): NEXT I
2690 FOR I=1 TO N: FV(I)=FV(I)/TFV
2700 GV(I)=GV(I)/TGV: NEXT I
2710 PRINT " I [G] [GV] ";
2715 PRINT "[F] [FV] DIAMETER/μm"
2720 TG=0: TGV=0: TF=0: TFV=0
2730 NX=N: IF N>20 THEN NX=20
2740 FOR I=1 TO NX
2750 TG=TG+G(I)*(I*HD-HD/2)
2760 TF=TF+F(I)*(I*HD-HD/2)
2770 TGV=TGV+GV(I)*(I*HD-HD/2)
2780 TFV=TFV+FV(I)*(I*HD-HD/2)
2790 PRINT USING "#####";I;
2800 PRINT USING "#####";G(I);
2810 PRINT USING "#####";GV(I);
2820 PRINT USING "#####";F(I);
2830 PRINT USING "#####";FV(I);
2840 PRINT USING "#####";MIN+(I-1)*HD;
2845 PRINT "-";
2850 PRINT USING "#####";MIN+I*HD: NEXT I
2860 PRINT " MEAN:";
2870 PRINT USING "#####";TG;
2880 PRINT USING "#####";TGV;
2890 PRINT USING "#####";TF;
2900 PRINT USING "#####";TFV
2910 PRINT: INPUT " PRINT OUT <Y/N>";QS
2920 IF QS="" OR QS="Y" THEN ELSE 3070
2930 LPRINT " I [G] [GV] ";
2935 LPRINT "[F] [FV] RANGE"
2940 FOR I=1 TO NX
2950 LPRINT USING "#####";I;
2960 LPRINT USING "#####";G(I);
2970 LPRINT USING "#####";GV(I);
2980 LPRINT USING "#####";F(I);
2990 LPRINT USING "#####";FV(I);
3000 LPRINT USING "#####";MIN+(I-1)*HD;
3005 LPRINT "-";
3010 LPRINT USING "#####";MIN+I*HD: NEXT I
3020 LPRINT "MEAN: ";
3030 LPRINT USING "#####";TG;
3040 LPRINT USING "#####";TGV;
3050 LPRINT USING "#####";TF;
3060 LPRINT USING "#####";TFV;
3070 RETURN
3090
3100 2次行列と2次行列の乗算 (A × B → C)
3110
3120 *MUL
3130 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
3135 F(I)=0: NEXT J: NEXT I
3140 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
3160 FOR K=1 TO N
3170 C(I,J)=C(I,J)+A(I,K)*B(K,J)
3180 NEXT K: NEXT J: NEXT I
3210 RETURN
3230
3240 1次行列と2次行列の乗算 (G × B → F)
3250
3260 *MUL2
3270 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N: F(I)=0
3275 NEXT J: NEXT I
3280 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
3300 F(I)=F(I)+G(J)*B(J,I)
3310 NEXT J: NEXT I
3330 RETURN
3350
3360 行列の値の計算 (|Y| → VA)
3370
3380 *IYI
3390 VA=1
3400 IF M=1 THEN VA=Y(1,1): GOTO 3460

```

```

3410 IF M=2 THEN ELSE 3430
3420 VA=VA*(Y(1,1)*Y(2,2)-Y(1,2)*Y(2,1))
3425 GOTO 3460
3430 GOSUB *VALP
3440 VA=VA*VAP
3450 M=M-1: GOTO 3410
3460 RETURN
3510 *VALP
3520 IK=1
3530 IF IK=M+1 THEN ELSE 3540
3535 VAP=0: VA=0: RETURN 3460
3540 IF Y(1,IK)=0 THEN IK=IK+1: GOTO 3530
3550 IF IK=1 THEN 3570
3560 FOR I=1 TO M: SWAP Y(I,1),Y(I,IK)
3565 NEXT I
3570 FOR I=2 TO M: FOR J=2 TO M
3590 Y(I,J)=Y(I,J)-Y(I,1)*Y(1,J)/Y(1,1)
3600 NEXT J: NEXT I
3620 VAP=Y(1,1)
3630 IF INT(IK/2)*2=IK THEN VAP=-VAP
3640 FOR I=1 TO M-1: FOR J=1 TO M-1
3645 Y(I,J)=Y(I+1,J+1): NEXT J: NEXT I
3650 RETURN
3670
3680 逆行列の計算 (INV(A) → B)
3690
3700 *INV
3710 FOR IA=1 TO N: FOR JA=1 TO N
3730 GOSUB *SMALL
3740 M=N-1: GOSUB *IYI
3750 B(JA,IA)=VA*(-1)^(IA+JA)/VAA
3760 NEXT JA: NEXT IA
3780 RETURN
3800
3810 余因子行列の計算
3820
3830 *SMALL
3840 FOR II=1 TO N
3850 IF II=IA THEN 3920
3860 FOR JJ=1 TO N
3870 IF JJ=JA THEN 3910
3880 IF II<IA THEN IK=II ELSE IK=II-1
3890 IF JJ<JA THEN JK=JJ ELSE JK=JJ-1
3900 Y(IK,JK)=A(II,JJ)
3910 NEXT JJ
3920 NEXT II
3930 RETURN
1000
1010 切片の厚さを考慮した電顕的ステレオロジー
1020 (Part 2: a-行列とその逆行列の作成)
1040
1050 SAVE "STEREO2.BAS"
1070
1080 初期化
1090
1100 DEFDBL A-G,P-Z 倍精度実数型変数の定義
1110 CONSOLE 0,24,0,1 テキスト画面初期化
1120 SCREEN 3,0,0,1 グラフィック画面初期化
1140 VIEW (0,0)-(639,399) グラフィック領域設定
1150 COLOR 7,0,0,7,2 16色モード設定
1170 COLOR=(1,&HFFF) 表示色1の定義
1180 COLOR=(2,&HAC2) 表示色2の定義
1190 COLOR=(3,&H800) 表示色3の定義
1200 DIM A(30,30),B(30,30) 行列型変数の定義
1210 DIM C(30,30),Y(30,30),G(30),F(30),GV(30)
1220 DIM FV(30),AMF$(50),AMN(50),AMTH(50)
1230 DIM NTC$(20)
1240 CLS 3 画面クリアー
1250
1260
1270
1270
1290 GOSUB *NOTICE プログラム説明文の表示
1300 GOSUB *INIT 行列の条件設定
1310 GOSUB *CALC.A a-行列データの作成
1320 GOSUB *CALC.B a-行列の逆行列計算

```

```

1330 GOSUB *TERMINATE      ディスク情報の更新
1340 RUN "STEREO1.BAS"
1390
1400 プログラムの解説表示
1410
1420 *NOTICE
1430 CLS 3
1440 WIDTH 80,20
1450 LINE (67, 7)-(573,308),2,BF
1460 LINE (70,10)-(570,305),3,BF
1470 LINE (67,47)-(573,49 ),2,BF
1480 FOR I=1 TO 16: READ NTC$(I)
1490 LOCATE 10,I: PRINT NTC$(I): NEXT I
1500 DATA "α行列作成プログラム"
1505 DATA "[STEREO2] NOV. 9, 1990"
1510 DATA " "
1520 DATA " このプログラムは、分布を持った球の"
1525 DATA "集合をある厚さ (t) に切片化した場合"
1530 DATA "に観察される円形の直径分布 (ランク幅"
1531 DATA "h) から、もともとの球の直径の分布を"
1532 DATA "推定する計算に用いられる行列を作成す"
1550 DATA "るプログラムです。"
1560 DATA " この行列 (α行列) を作成するために"
1565 DATA "必要な値は、実測データの分布のランク"
1566 DATA "の最大数 (n) と、 t/h 値です。n は"
1570 DATA "いくら大きくてもかまいませんが、α行"
1575 DATA "列作成に要する時間はnの2乗に比例し"
1590 DATA "して長くなります。"
1600 DATA " α行列の作成が終了すると自動的にメ"
1605 DATA "インプログラムに復帰します。"
1630 DATA " "
1640 DATA " "
1650 DATA "何かキーを押して下さい。"
1660 K$=INKEY$: IF K$="" THEN GOTO 1660
1670 WIDTH 80,25
1680 RETURN
1700
1710 α-行列の計算のための条件設定
1720
1730 *INIT
1740 CLS 3
1750 OPEN "ALPHA.DSK" FOR INPUT AS #1
1760 INPUT #1, NA
1770 FOR I=1 TO NA
1780 INPUT #1, AMF$(I), AMN(I), AMTH(I)
1790 NEXT I: CLOSE #1
1800 PRINT "ファイル名 n t/h"
1810 FOR I=1 TO NA
1820 AMF$(I)=LEFT$(AMF$(I)+ " ",8)
1830 PRINT AMF$(I);
1840 PRINT USING "#####"; AMN(I);
1850 PRINT USING "#####"; AMTH(I)
1860 NEXT I: PRINT
1870 A$="度数分布の最大数 (n) "
1880 PRINT A$; INPUT N
1890 AMN(I+1)=N
1900 A$="切片の厚さ (t) / 度数"
1905 A$=A$+"分布の間隔 (h) "
1910 PRINT A$; INPUT TH
1920 AMTH(I+1)=TH
1930 A$="新しいα行列のファイル名 "
1940 PRINT A$; INPUT AF$
1950 AMF$(I+1)=AF$
1960 AFF$=LEFT$(RIGHT$(AF$,4),1)
1965 IF AFF$="" THEN ELSE 1970
1966 AF$=LEFT$(AF$,LEN(AFF$)-4)
1970 AF$=LEFT$(AF$+" ",8)
1980 AX=0
1990 FOR I=1 TO NA
2000 IF AMF$(I)=AF$ THEN AX=1
2010 NEXT I
2020 IF AX=1 THEN ELSE 2050
2030 PRINT " ファイル名が重複しています。"
2040 GOTO 1940
2050 RETURN
2070
2080 α-行列の計算

```

```

2090
2100 *CALC.A
2110 CLS 3
2121 TX$=TIME$
2122 TIME$="00:00:00"
2123 FOR I=1 TO 34000: NEXT I
2124 TX=VAL(RIGHT$(TIME$,2))
2125 TIME$=TX$
2126 TX=2.2*N*N*N/600
2127 LOCATE 25,17
2128 PRINT "現在の時刻: ",TIME$
2129 LOCATE 25,18: PRINT "計算所用時間: ";
2130 PRINT USING "#####";TX;
2131 PRINT "分"
2132 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
2140 IF I<J THEN A(I,J)=0: GOTO 2180
2150 IF I=J THEN ELSE 2170
2160 A(I,J)=SQR((I-.5)^2-(J-1)^2)+TH
2161 GOTO 2180
2170 A(I,J)=SQR((I-.5)^2-(J-1)^2)
2171 A(I,J)=A(I,J)-SQR((I-.5)^2-J^2)
2180 NEXT J: NEXT I
2220 OPEN AF$+"ALP" FOR OUTPUT AS #1
2230 PRINT #1, N
2240 PRINT #1, TH
2250 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO 15
2260 PRINT #1, A(I,J): NEXT J: NEXT I
2270 RETURN
2290
2300 α-行列の逆行列の計算
2310
2320 *CALC.B
2330 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
2335 Y(I,J)=A(I,J): NEXT J: NEXT I
2340 M=N: GOSUB *YI
2350 VAA=VA: GOSUB *INV
2380 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO 15
2390 PRINT #1, B(I,J): NEXT J: NEXT I
2400 CLOSE #1
2410 GOSUB *MUL
2440 RETURN
2460
2470 ディスク情報ファイルの更新
2480
2490 *TERMINATE
2500 NA=NA+1
2510 OPEN "ALPHA.DAT" FOR OUTPUT AS #1
2520 PRINT #1, NA "セーブされているα-行列の数"
2530 FOR I=1 TO NA
2540 PRINT #1, AMF$(I) "ファイル名"
2550 PRINT #1, AMN(I) "N"
2560 PRINT #1, AMTH(I) "T/H"
2570 NEXT I: CLOSE #1
2580 RETURN
2600
2610 行列の乗算 (A × B → C)
2620
2630 *MUL
2640 FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO N
2645 C(I,J)=0: NEXT J: NEXT I
2650 FOR I=1 TO N
2660 FOR J=1 TO N
2670 FOR K=1 TO N
2680 C(I,J)=C(I,J)+A(I,K)*B(K,J)
2690 NEXT K: NEXT J: NEXT I
2720 RETURN
2740
2750 行列の値の計算 (|Y| → VA)
2760
2770 *YI
2780 VA=1
2790 IF M=1 THEN VA=Y(1,1): GOTO 2850
2800 IF M=2 THEN ELSE 2820
2810 VA=VA*(Y(1,1)*Y(2,2)-Y(1,2)*Y(2,1))
2815 GOTO 2850
2820 GOSUB *VALP
2830 VA=VA*VAP

```

```

2840 M=M-1: GOTO 2800
2850 RETURN
2900 *VALP
2910 IK=1
2920 IF IK=M+1 THEN ELSE 2930
2925 VAP=0: VA=0: RETURN 2850
2930 IF Y(1,IK)=0 THEN IK=IK+1: GOTO 2920
2940 IF IK=1 THEN 2960
2950 FOR I=1 TO M: SWAP Y(I,1),Y(I,IK)
2955 NEXT I
2960 FOR I=2 TO M
2970 FOR J=2 TO M
2980 Y(I,J)=Y(I,J)-Y(I,1)*Y(1,J)/Y(1,1)
2990 NEXT J
3000 NEXT I
3010 VAP=Y(1,1)
3020 IF INT(IK/2)*2=IK THEN VAP=-VAP
3030 FOR I=1 TO M-1: FOR J=1 TO M-1
3040 Y(I,J)=Y(I+1,J+1): NEXT J: NEXT I
3050 RETURN
3070
3080 逆行列の計算 (INV(A) → B)
3090
3100 *INV
3110 FOR IA=1 TO N
3130 FOR JA=1 TO N
3140 GOSUB *SMALL
3150 M=N-1: GOSUB *IYI
3160 B(JA,IA)=VA*(-1)^(IA+JA)/VAA
3170 NEXT JA: NEXT IA
3190 RETURN
3210
3220 余因子行列の計算
3230
3240 *SMALL
3250 FOR II=1 TO N
3260 IF II=IA THEN 3330
3270 FOR JJ=1 TO N
3280 IF JJ=JA THEN 3320
3290 IF II<IA THEN IK=II ELSE IK=II-1
3300 IF JJ<JA THEN JK=JJ ELSE JK=JJ-1
3310 Y(IK,JK)=A(II,JJ)
3320 NEXT JJ
3330 NEXT II
3340 RETURN
1000
1010 切片の厚さを考慮した電顕的ステレオロジー
1020 (Part 3: データファイルの作成)
1040
1050 SAVE "STEREO3.BAS"
1060
1070 初期化
1080
1090 DEFDBL A-G,P-Z : 倍精度実数型変数の定義
1100 CONSOLE 0,24,0,1 : テキスト画面初期化
1110 SCREEN 3,0,0,1 : グラフィック画面初期化
1130 VIEW (0,0)-(639,399) : グラフィック領域設定
1140 COLOR 7,0,0,7,2 : 16色モード設定
1160 COLOR=(1,&HFFF) : 表示色1の定義
1161 COLOR=(2,&HAC2) : 表示色2の定義
1162 COLOR=(3,&H800) : 表示色3の定義
1163 WIDTH 80,25 : 25行モード設定
1200 DIM G(30),NTC$(20) : 行列型変数の定義
1210 CLS 3 : 画面クリアー
1220
1230 メインプログラム
1240
1260 GOSUB *NOTICE : プログラムの説明
1270 GOSUB *M.DATA : データ作成
1271 RUN "STEREO1.BAS"
1340
1350 プログラムの解説表示
1360
1370 *NOTICE
1380 CLS 3

```

```

1381 WIDTH 80,20
1382 LINE (67, 7)-(573,308),2,BF
1383 LINE (70,10)-(570,305),3,BF
1384 LINE (67,47)-(573,49 ),2,BF
1390 FOR I=1 TO 16: READ NTC$(I)
1400 LOCATE 10,I: PRINT NTC$(I): NEXT I
1410 K$=INKEY$: IF K$="" THEN GOTO 1410
1420 DATA "データファイル作成プログラム"
1425 DATA "[STEREO3] NOV. 9, 1990"
1430 DATA " "
1440 DATA " このプログラムは、電顕的ステレ"
1445 DATA "オロジーのための球形粒子の直径の"
1450 DATA "分布データ(実測データ)を、計算"
1455 DATA "に用いることのできる形式のデータ"
1460 DATA "ファイルにするプログラムです。"
1470 DATA " 必要とされるデータは、(1)度"
1475 DATA "数分布のクラス数、(2)切片の厚"
1480 DATA "さ、(3)度数分布のランク幅、各"
1485 DATA "クラスの度数です。"
1490 DATA " データファイルの作成が終了する"
1495 DATA "と、自動的にメインプログラムに復"
1500 DATA "帰します。"
1501 DATA " "
1507 DATA "何かキーを押して下さい。"
1508 WIDTH 80,25
1510 RETURN
1520
1540 実測データファイルの作成とセーブ
1550
1560 *M.DATA
1561 CLS 3
1570 FILES "*.DAT": PRINT
1571 PRINT "新しいデータファイル名を:"
1572 PRINT "入力して下さい。"
1580 INPUT FDS
1581 PRINT "度数分布のランクの数を入:"
1582 PRINT "力して下さい。"
1583 INPUT ND
1590 PRINT "切片の厚さ (nm) を入力:"
1591 PRINT "して下さい。"
1592 INPUT TD
1593 PRINT "直径の度数分布のクラス幅:"
1594 PRINT " (nm) を入力して下さい。"
1595 INPUT HD
1600 PRINT: PRINT " 直径(μm)      度数"
1610 FOR I=1 TO ND
1620 PRINT USING "###.#";(I-1)*HD;
1625 PRINT " ~";
1630 PRINT USING "###.#";I*HD;
1635 PRINT " ";
1640 INPUT " ",G(I): NEXT I
1641 PRINT: INPUT "OK <Y/N>";Q$
1642 IF Q$="" OR Q$="Y" THEN ELSE 1600
2000 OPEN FDS+".DAT" FOR OUTPUT AS #1
2001 PRINT #1, ND
2002 PRINT #1, TD/1000
2003 PRINT #1, HD/1000
2005 FOR I=1 TO ND: PRINT #1, G(I)
2006 NEXT I: CLOSE #1
2100 RETURN

```

計算機 : NEC PC-9801 シリーズ
 言語 : MS-DOS N88BASIC Ver. 6.0