

分子細胞生物学研究所データ解析結果

What's in a picture? The temptation of image manipulation

Mike Rossner¹ and Kenneth M. Yamada²

¹Managing Editor, The Journal of Cell Biology

²Editor, The Journal of Cell Biology, and the National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health

It's all so easy with Photoshop¹. In the days before imaging software became so widely available, making adjustments to image data in the darkroom required considerable effort and/or expertise. It is now very simple, and thus tempting, to adjust or modify digital image files. Many such manipulations, however, constitute inappropriate changes to your original data, and making such changes can be classified as scientific misconduct. Skilled editorial staff can spot such manipulations using features in the imaging software, so manipulation is also a risky proposition.

Good science requires reliable data. Consequently, to protect the integrity of research, the scientific community takes strong action against perceived scientific misconduct. In the current definition provided by the U.S. government: "Research misconduct is defined as fabrication, falsification, or plagiarism in proposing, performing, or reviewing research, or in reporting research results." For example, showing a figure in which part of the image was either selectively altered or reconstructed to show something that did not exist originally (for example, add-

ing or modifying a band in a polyacrylamide gel image) can represent falsification or fabrication.

Being accused of misconduct initiates a painful process that can disrupt one's research and career. To avoid such a situation, it is important to understand where the ethical lines are drawn between acceptable and unacceptable image adjustment.

Here we present some general guidelines for the proper handling of digital image data and provide some specific examples to illustrate pitfalls and inappropriate practices. There are different degrees of severity of a manipulation, depending on whether the alteration deliberately changes the interpretation of the data. That is, creating a result is worse than making weak data look better. Nevertheless, any manipulation that violates these guidelines is a misrepresentation of the original data and is a form of misconduct. All of the examples we will show here have been created by us using Photoshop; although they may appear bizarre, it is remarkable that they are actually based on real cases of digital manipulation discovered by a careful examination of digital images in a sample of papers submitted (or even accepted) for publication in a journal.

Why is it wrong to "touch up" images?

If you misrepresent your data, you are deceiving your colleagues, who expect and assume basic scientific honesty—that is, that each image you present is an accurate representation of what you actually observed. In addition, an im-

age usually carries information beyond the specific point being made. The quality of an image has implications about the care with which it was obtained, and a frequent assumption (though not necessarily true) is that in order to obtain a presentation-quality image, you had to carefully repeat an experiment multiple times.

Manipulating images to make figures more simple and more convincing may also deprive you and your colleagues of seeing other information that is often hidden in a picture or other primary data. Well-known examples include evidence of low quantities of other molecules, variations in the pattern of localization, and interactions or cooperativity.

Journal guidelines

It is surprising that many journals say little or nothing in their "Instructions to Authors" about which types of digital manipulations are acceptable and which are not. The following journals provide some guidelines, but they vary widely in comprehensiveness.

Molecular and Cellular Biology. "Since the contents of computer-generated images can be manipulated for better clarity, the Publications Board at its May 1992 meeting decreed that a description of the software/hardware used should be put in the figure legend(s)."

Journal of Cell Science. "Image enhancement with computer software is acceptable practice, but there is a danger that it can result in the presentation of quite unrepresentative data as well as in the loss of real and meaningful signals. During manipulation of images, a

分生研倫理セミナー
2013年4・22開催資料より

What's in a picture? The temptation of image manipulation

JCB. (2004) 166, 11–15

2004年に細胞生物学専門誌 JCB(Journal of Cell Biology) に掲載された画像操作のガイドライン。2004年当時は画像データがデジタル化されたことによる改ざん、捏造などの問題が表面化した頃であり、JCBではいち早くガイドラインをまとめ警鐘を鳴らした。本論文は画像操作の基本を説いた礎として多くの科学雑誌の投稿ガイドラインの規範となっている

過剰な操作によって画像に含まれているものを消し去ってはいけない

B.

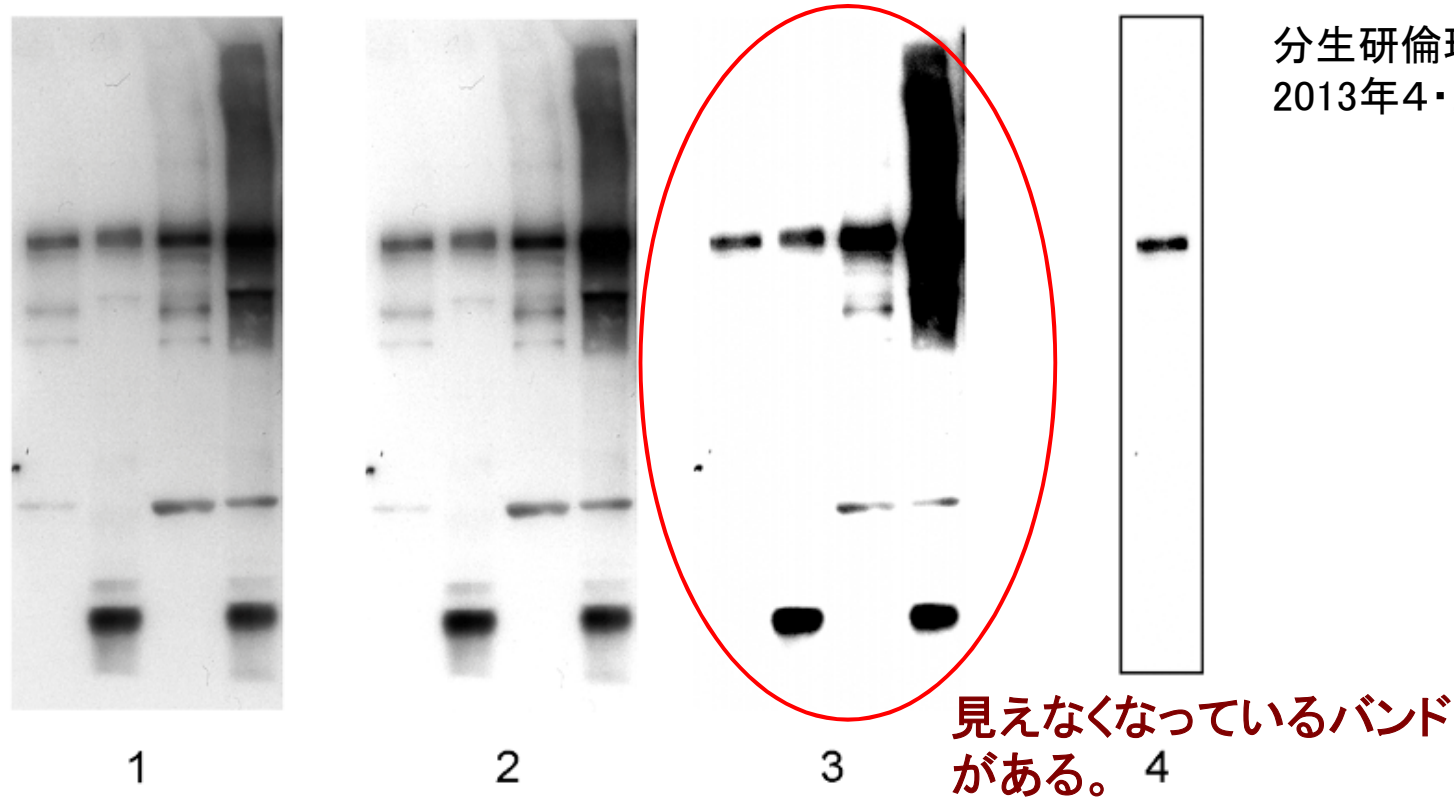
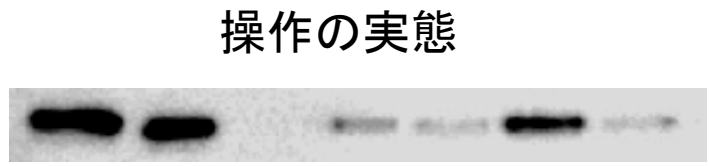
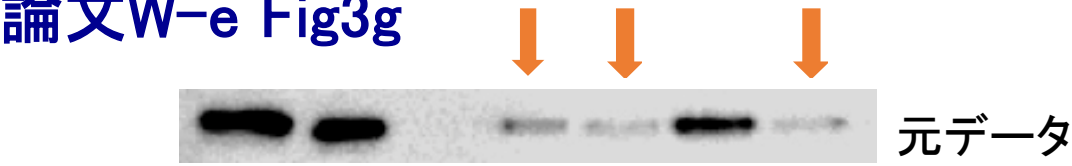


Figure 3. **Manipulation of blots: brightness and contrast adjustments.** (A) Adjusting the intensity of a single band (arrow). B) Adjustments of contrast. Images 1, 2, and 3 show sequentially more severe adjustments of contrast. Although the adjustment from 1 to 2 is acceptable because it does not obscure any of the bands, the adjustment from 2 to 3 is unacceptable because several bands are eliminated. Cutting out a strip of a blot with the contrast adjusted provides the false impression of a very clean result (image 4 was derived from a heavily adjusted version of the left lane of image 1). For a more detailed discussion of “gel slicing and dicing,” see *Nature Cell Biology* editorial (2).

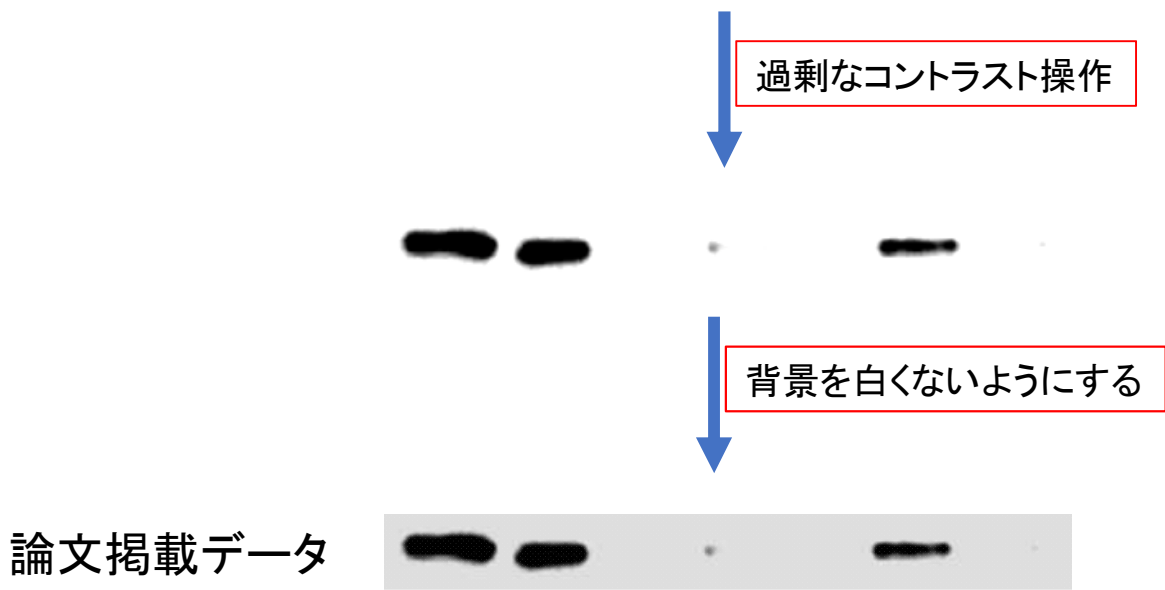
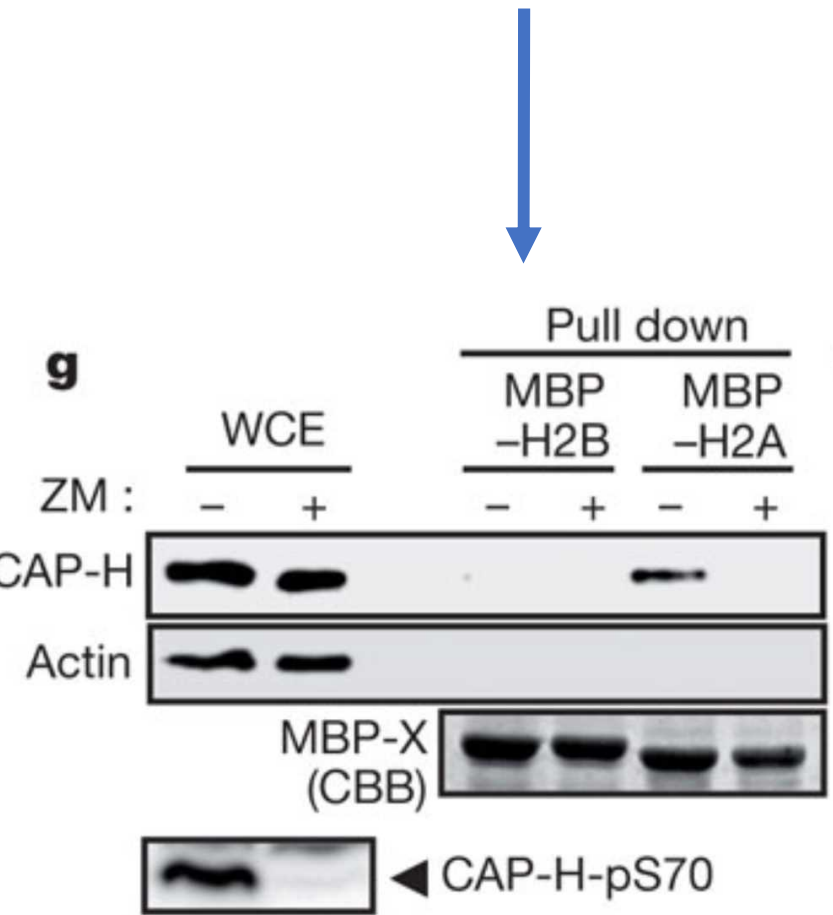
過剰な操作によって画像に含まれているものを消し去ってはいけない
—実際に何が行われたのか—
背景の着色による偽装

論文W-e Fig3g

改ざん



操作の実態

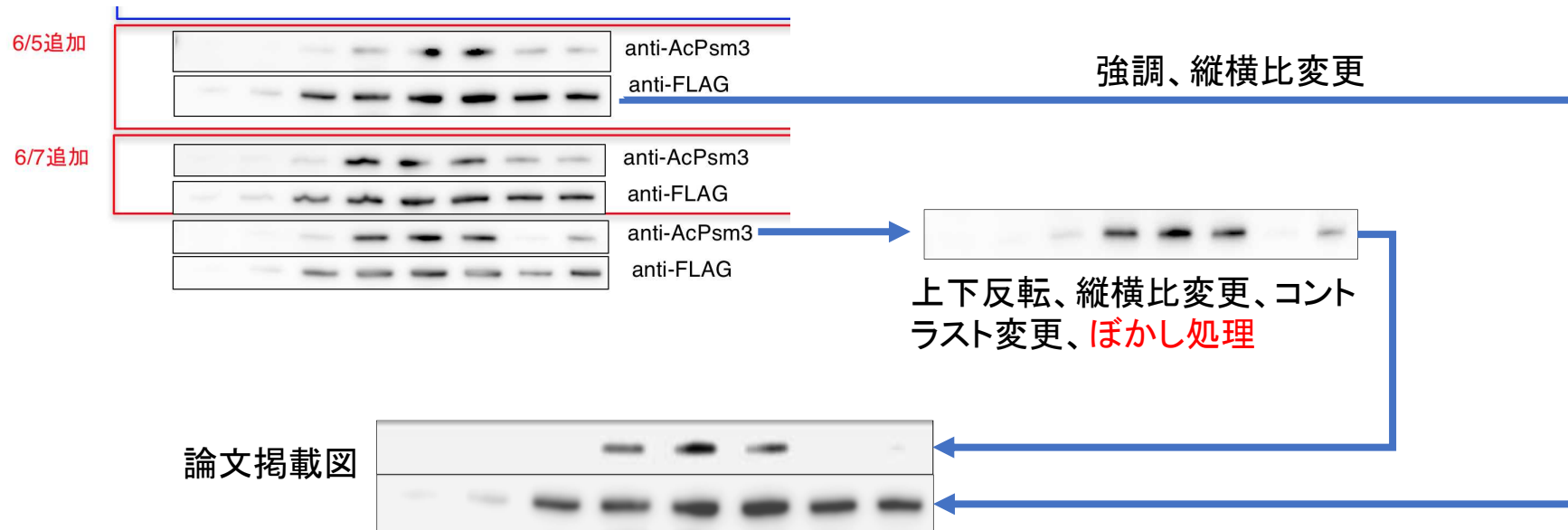


殆どの改ざんが認定された図においてこの二段階の操作ががなされている

過剰な操作によって画像に含まれているものを消し去ってはいけない —実際に何が行われたのか— 「ぼかし」によるバンド消去 論文W-f Fig2A

改ざん

元図(研究室内仕事セミナー図)



過剰なコントラストとぼかし処理によりバンドを消去。

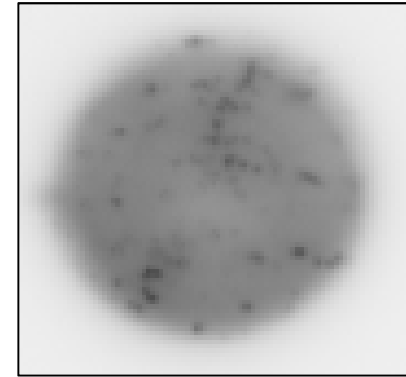
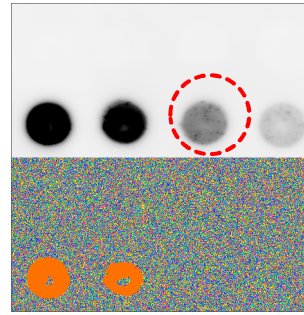
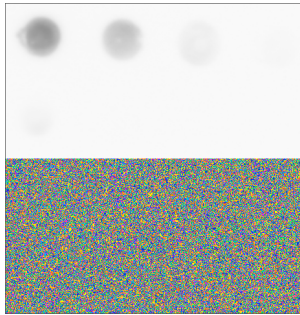
過剰な操作によって画像に含まれているものを消し去ってはいけない —実際に何が行われたのか— 「ぼかし」による画像操作 論文W-g FigS8A

改ざん

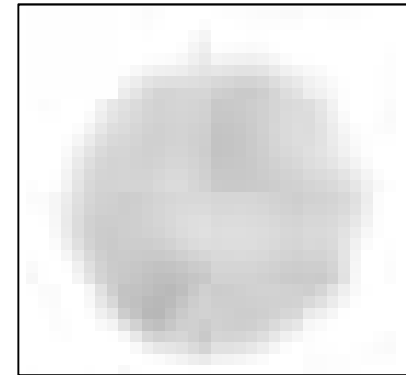
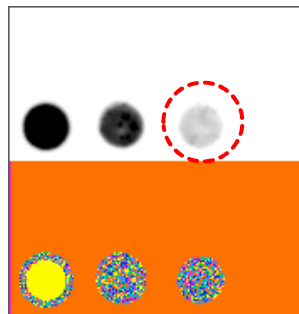
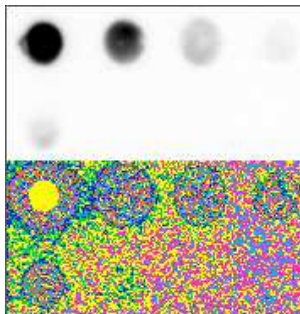
抗-H3K9me3抗体

抗-H3K9me3S10ph抗体

データ画像



原稿画像



過剰なコントラストと「ぼかし」操作によるシグナル消去

例示写真(画像)に用いた酵母株が、定量に用いた株と異なっている
論文W-b Fig.2e,3d

捏造

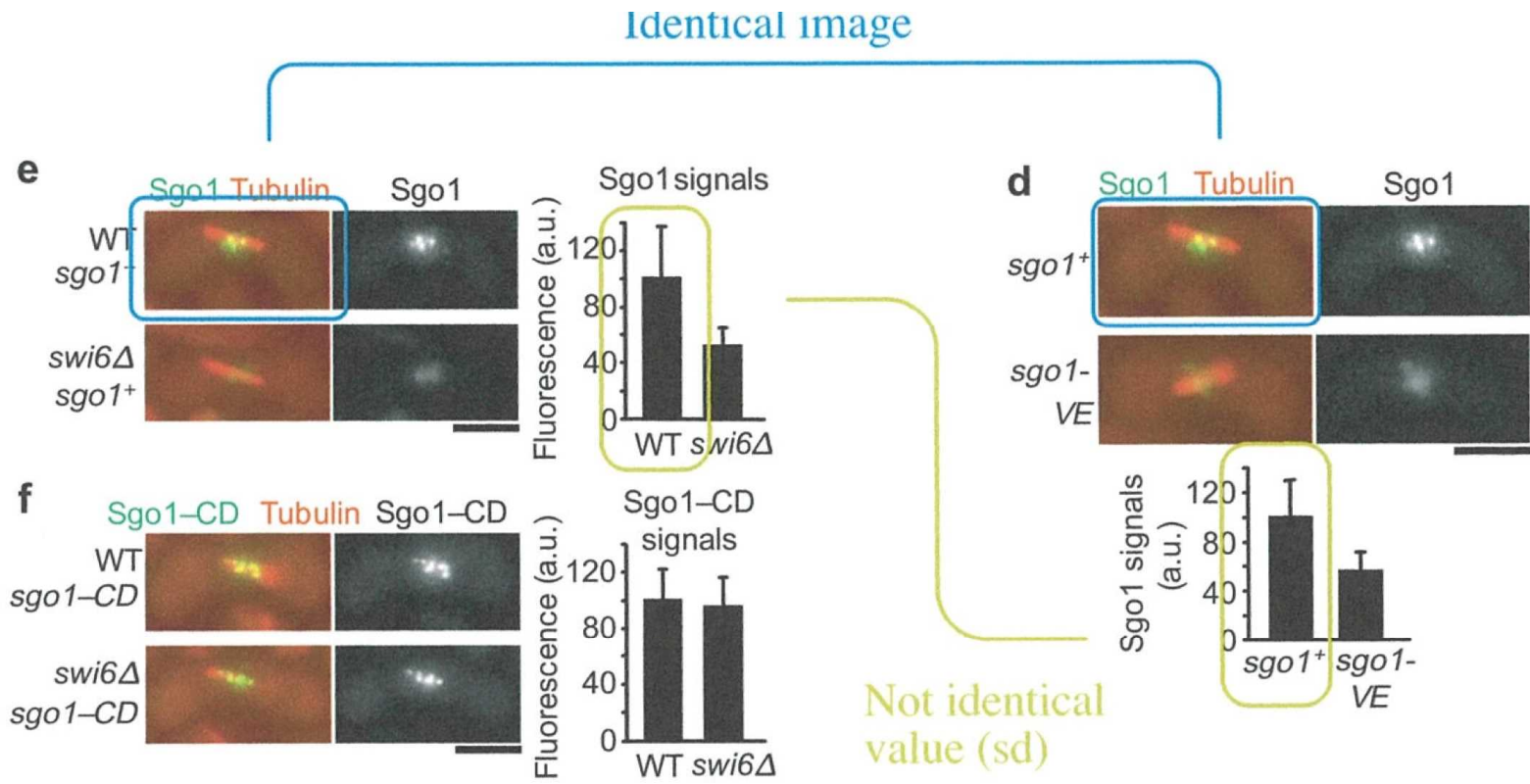


Fig.2e

Fig.3d

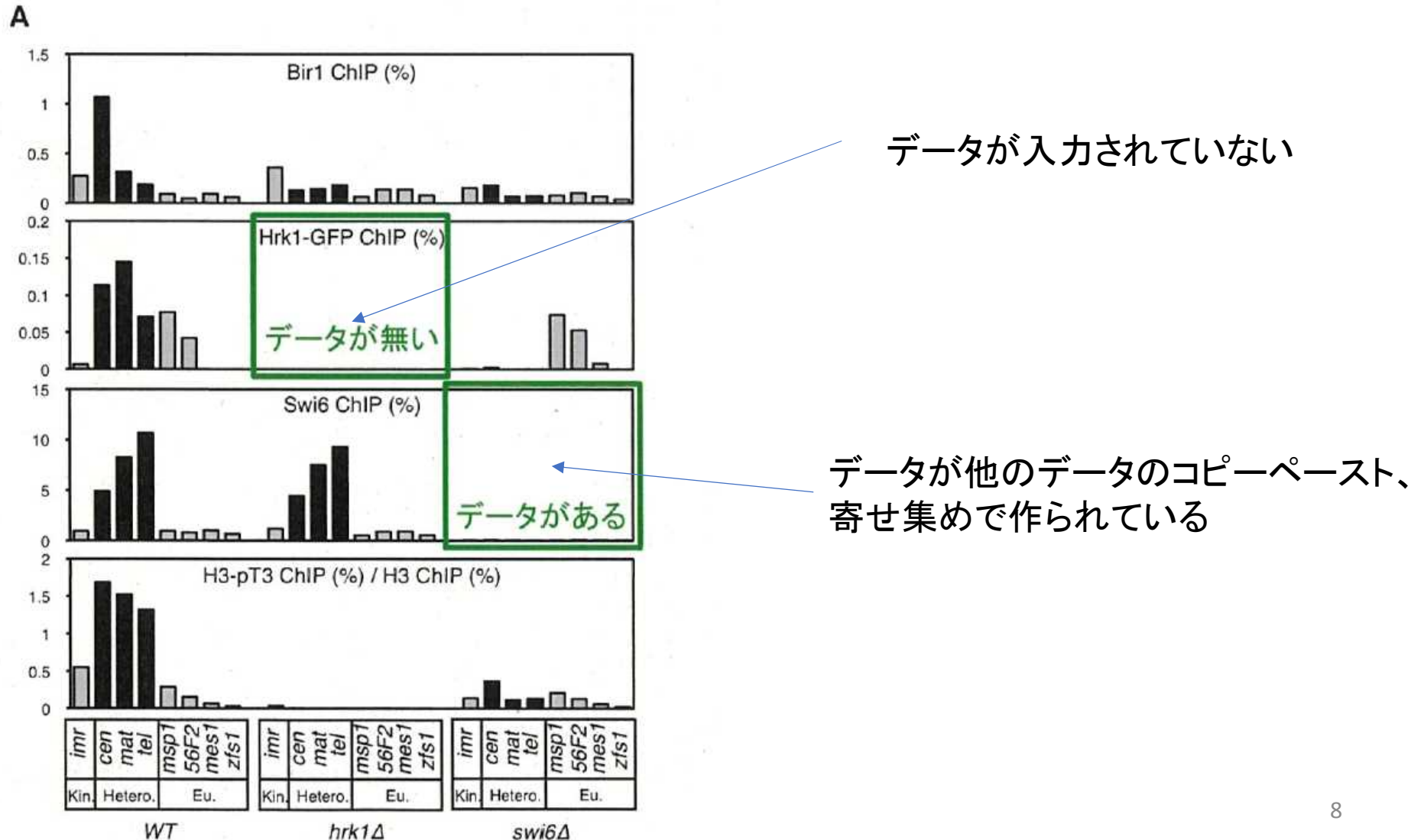
グラフデータの捏造

データ未入力とコピーペーストによるネガティブコントロールデータの捏造

論文W-c Fig3A

捏造

ネガティブコントロールのコピーあるいはデータの不在



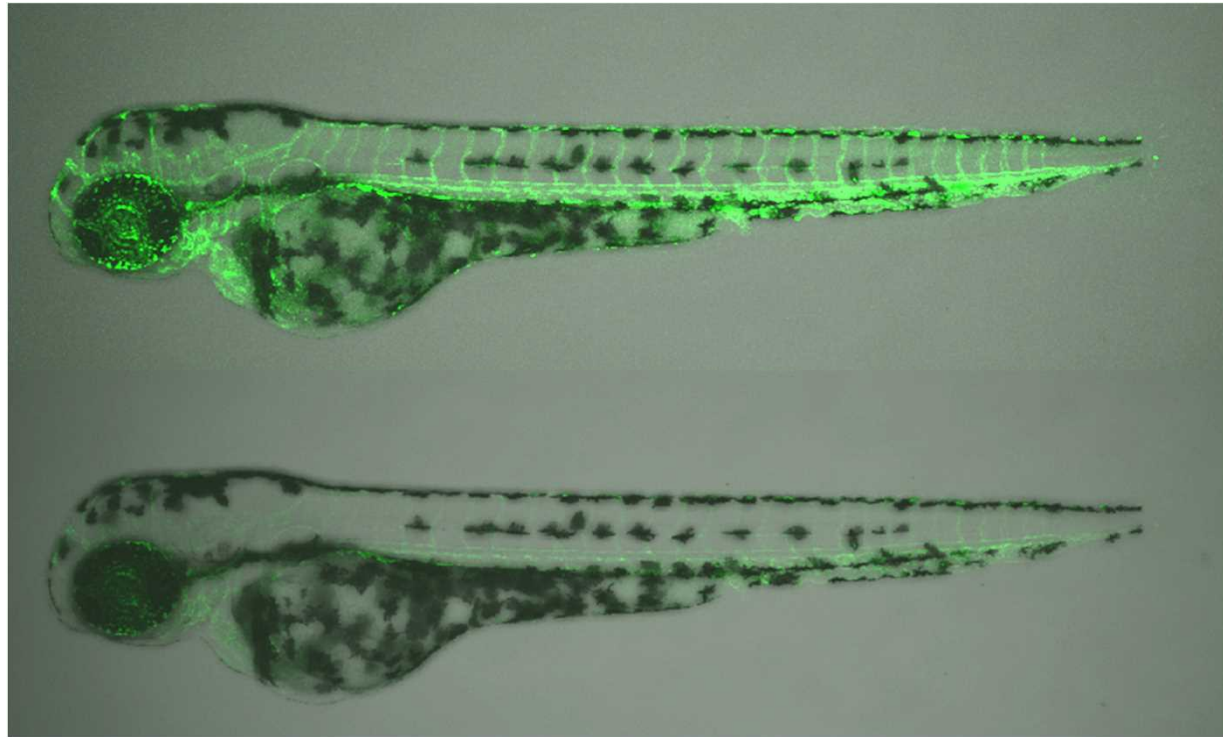
顕微鏡画像データに見られる不正

やってはいけない事

- A群とB群を比較する際には、双方ともに同一の条件でデータを取得し、提示しなくてはならない
- 画像はすべて、同一に処理(各種フィルター、コントラスト、 γ 補正)をかけなくてはならない
- ただし、Legendsに記載できることならば、何をしてもよい
(注: 合理的理由がある場合)

やってはいけない事

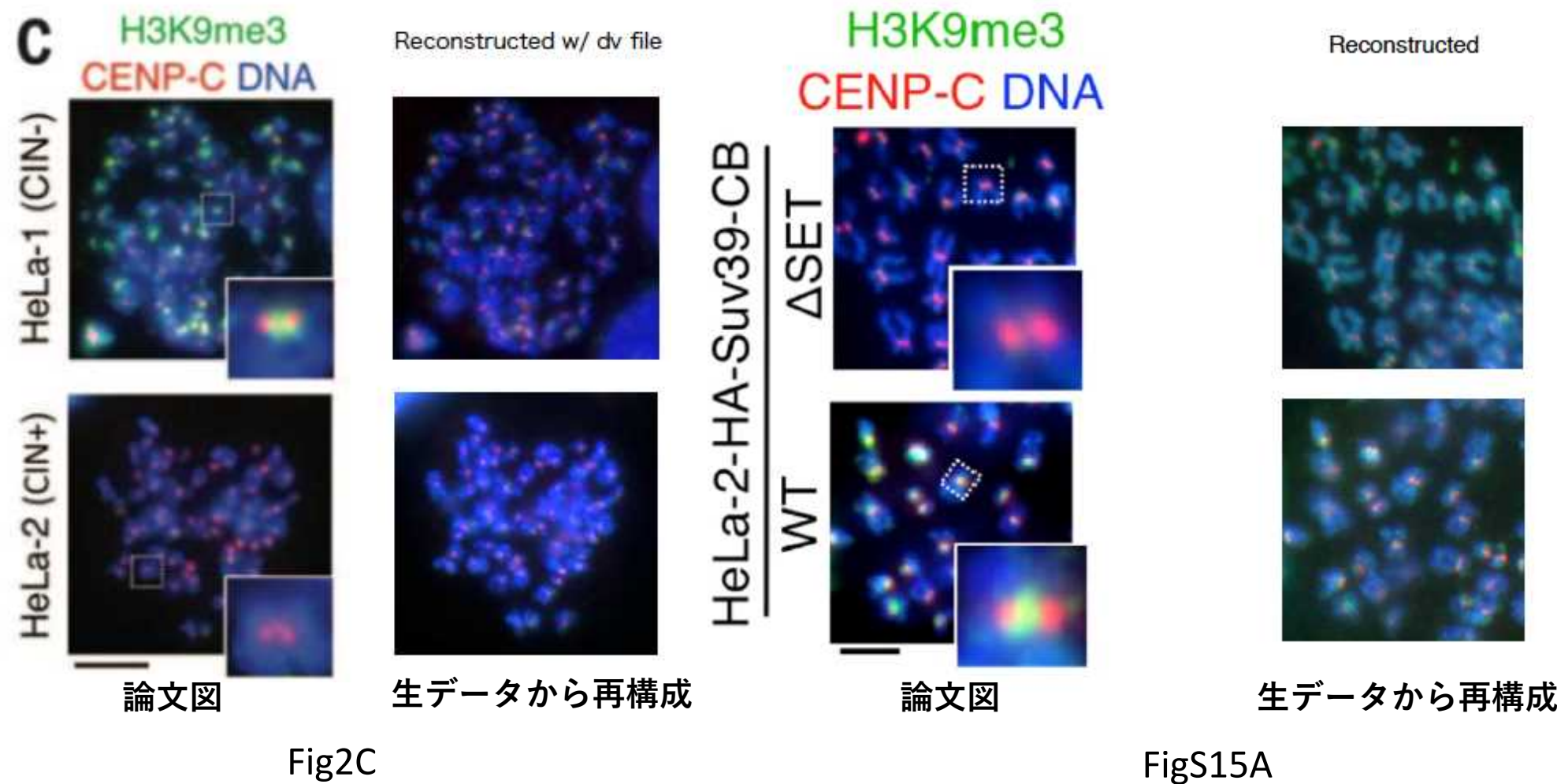
- A群とB群を比較する際には、双方ともに同一の条件でデータを取得し、提示しなくてはならない



同じ魚だが、露光時間が異なる

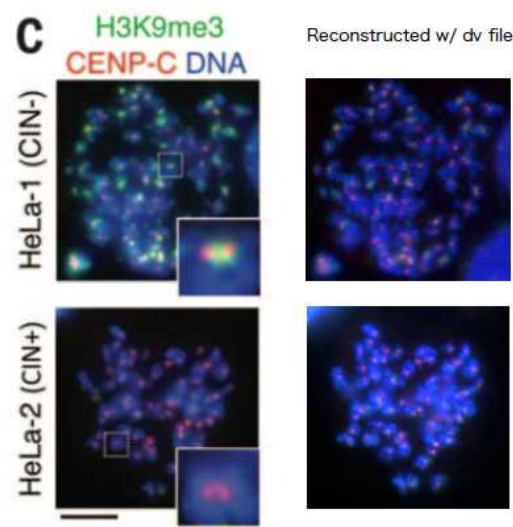
分生研倫理セミナー
2014年7月14日開催資料より

論文W-gでは本来比較対象にならないものを比較している例が多く見られる
論文W-g Fig2CおよびFigS15A



この論文では、本来比較対象にならないものを比較している例が多く見られる。Fig2CとFigS15Aをあげる。
それぞれの左（論文図）右（生データから再構成したもの）図を比較するとまず論文の画像ではGチャンネルが強調されたり、減弱されたりしていることが分かる。また、必ずしも同一条件でこれらの写真が得られていないことが分かる。Fig2Cでは励起波長が大きく異なっており検出に用いた2次抗体が異なる可能性がある。この場合比較など出来ない。

Fig. 2Cの 2 つの画像の場合



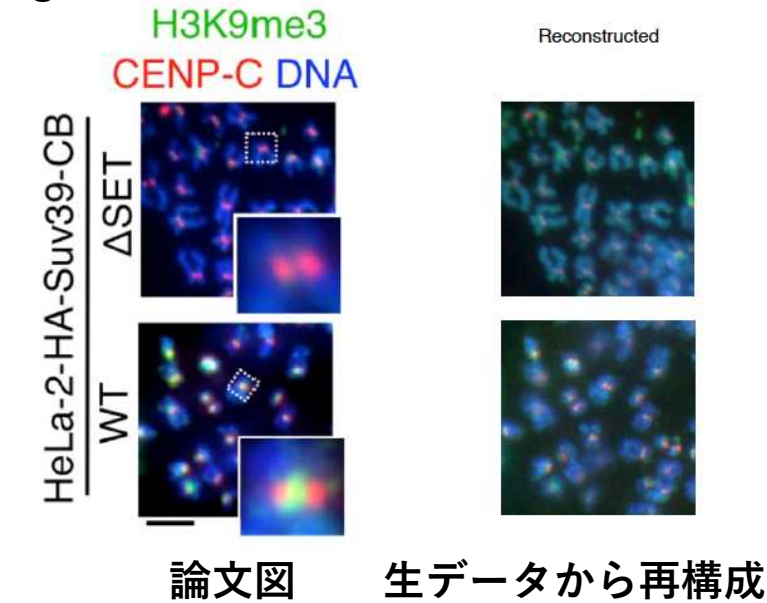
論文図 生データから再構成

- 同じ条件で取得した画像を、同じ画像処理をしたのちに比較すべきであるが、
- 1) そもそも、画像を取得した条件があまりにも異なる (下の表)
 - 2) 画像処理によって、本来の持つデータと異なる印象をもたせている

特に波長が大きく異なることは使われた2次抗体が違うことを予想させる。
ex 542の方はAlexa568、ex 475の方はAlexa488。この場合、両者の明るさは比べることはできない。2次抗体によるバックグラウンド染色の違いもあり
(たとえば、片方は全体的にバックが高い等) 本来比べられるものではない。

チャンネル	HeLa-1	HeLa-2	説明
赤外チャンネル (CENP-C)	emWavelen = 676.0	emWavelen = 676.0	
	exWavelen = 632.0	exWavelen = 632.0	
	expTime = 0.1	expTime = 0.1	
	ndFilter = 0.3	ndFilter = 0.5	励起の強度が異なる
赤 (Hela-1) あるいは緑 (Hela-2)チャンネル (H3K9me3)	<u>emWavelen = 594.0</u>	<u>emWavelen = 523.0</u>	波長が大きく異なる
	<u>exWavelen = 542.0</u>	<u>exWavelen = 475.0</u>	波長が大きく異なる
	expTime = 0.15	expTime = 0.2	露光時間が異なる
	ndFilter = 0.0	ndFilter = 0.0	
青チャンネル (Hoechst33342)	emWavelen = 435.0	emWavelen = 435.0	
	exWavelen = 390.0	exWavelen = 390.0	
	expTime = 0.1	expTime = 0.1	
	ndFilter = 0.01	ndFilter = 0.01	
ピクセルサイズ	<u>Resolution: 9.3458 pixels per micron</u>	<u>Resolution: 14.9533 pixels per micron</u>	<u>ピクセルサイズが異なる</u>

Fig. S15Aの 2 つの画像の比較する

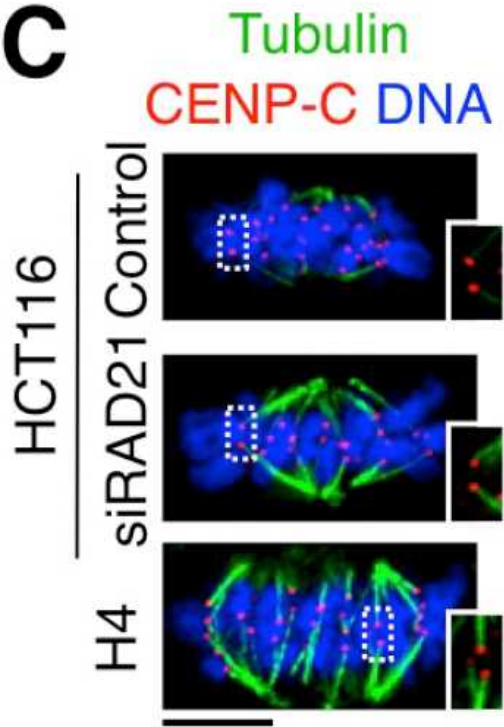


同じ条件で取得した画像を、同じ画像処理をしたのちに比較すべきであるが、
1) そもそも、画像を取得した条件が異なる (右の表)
2) 画像処理によって、本来の持つデータと異なる印象をもたせている

チャンネル	WT	deltaSET	相違
赤外チャンネル	emWavelen = 676.0	emWavelen = 679.0	波長が異なる
	exWavelen = 632.0	exWavelen = 632.0	
	<u>expTime = 0.1</u>	<u>expTime = 0.033563</u>	露光時間が異なる
	ndFilter = 0.5	ndFilter = 0.5	
赤チャンネル	emWavelen = 594.0	emWavelen = 597.0	波長が異なる
	exWavelen = 542.0	exWavelen = 542.0	
	<u>expTime = 0.1</u>	<u>expTime = 0.056391</u>	露光時間が異なる
	<u>ndFilter = 0.3</u>	<u>ndFilter = 0.0</u>	励起強度が異なる
緑チャンネル (H3K9me3)	emWavelen = 523.0	emWavelen = 525.0	波長が異なる
	exWavelen = 475.0	exWavelen = 475.0	
	<u>expTime = 0.1</u>	<u>expTime = 0.066114</u>	露光時間が異なる
	<u>ndFilter = 0.0</u>	<u>ndFilter = 0.01</u>	励起強度が異なる
青チャンネル (Hoechst33342)	emWavelen = 435.0	emWavelen = 435.0	
	exWavelen = 390.0	exWavelen = 390.0	
	<u>expTime = 0.15</u>	<u>expTime = 0.012303</u>	露光時間が異なる
	<u>ndFilter = 0.01</u>	<u>ndFilter = 0.5</u>	励起強度が異なる

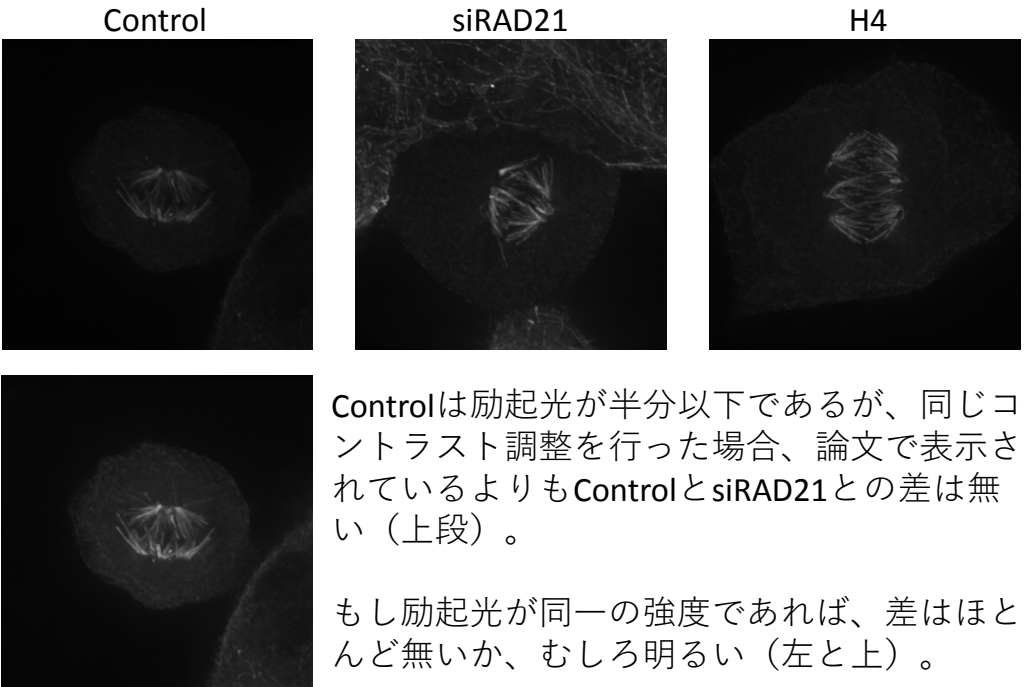
Figure S13
この図においても異なる撮影条件のものが定量に用いられていた。

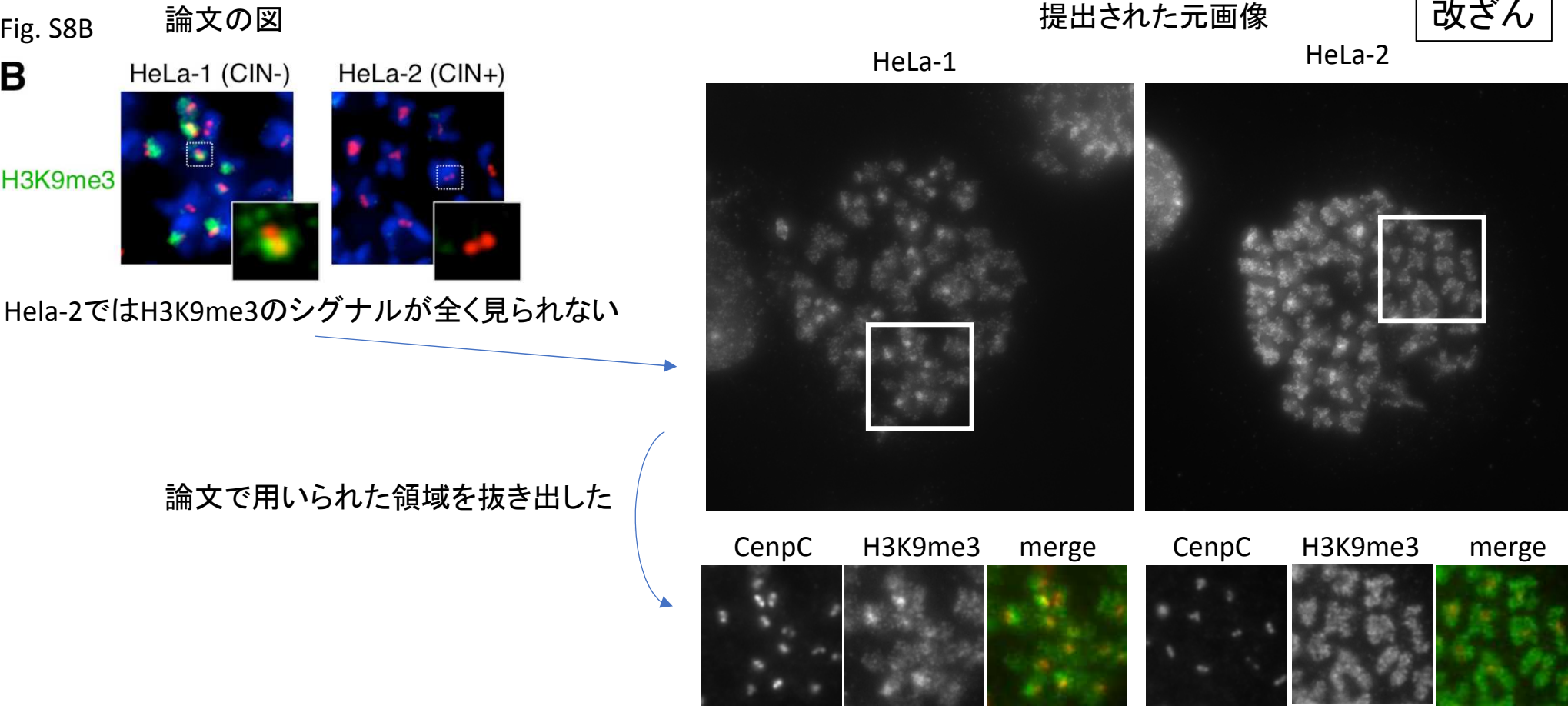
画像取得条件	Control	siRAD21	H4
蛍光波長	emWavelen = 525.0	emWavelen = 525.0	emWavelen = 525.0
励起波長	exWavelen = 475.0	exWavelen = 475.0	exWavelen = 475.0
励起時間	expTime = 0.160339	expTime = 0.260413	expTime = 0.282087
減光フィルター	ndFilter = 0.5	ndFilter = 0.0	ndFilter = 0.0



生データ

減光フィルターによる補正

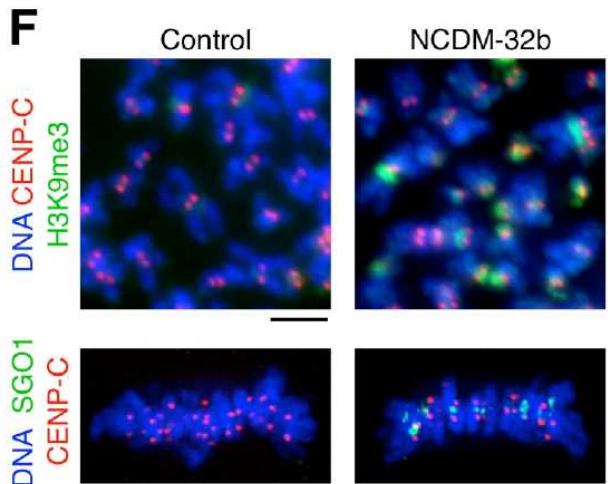




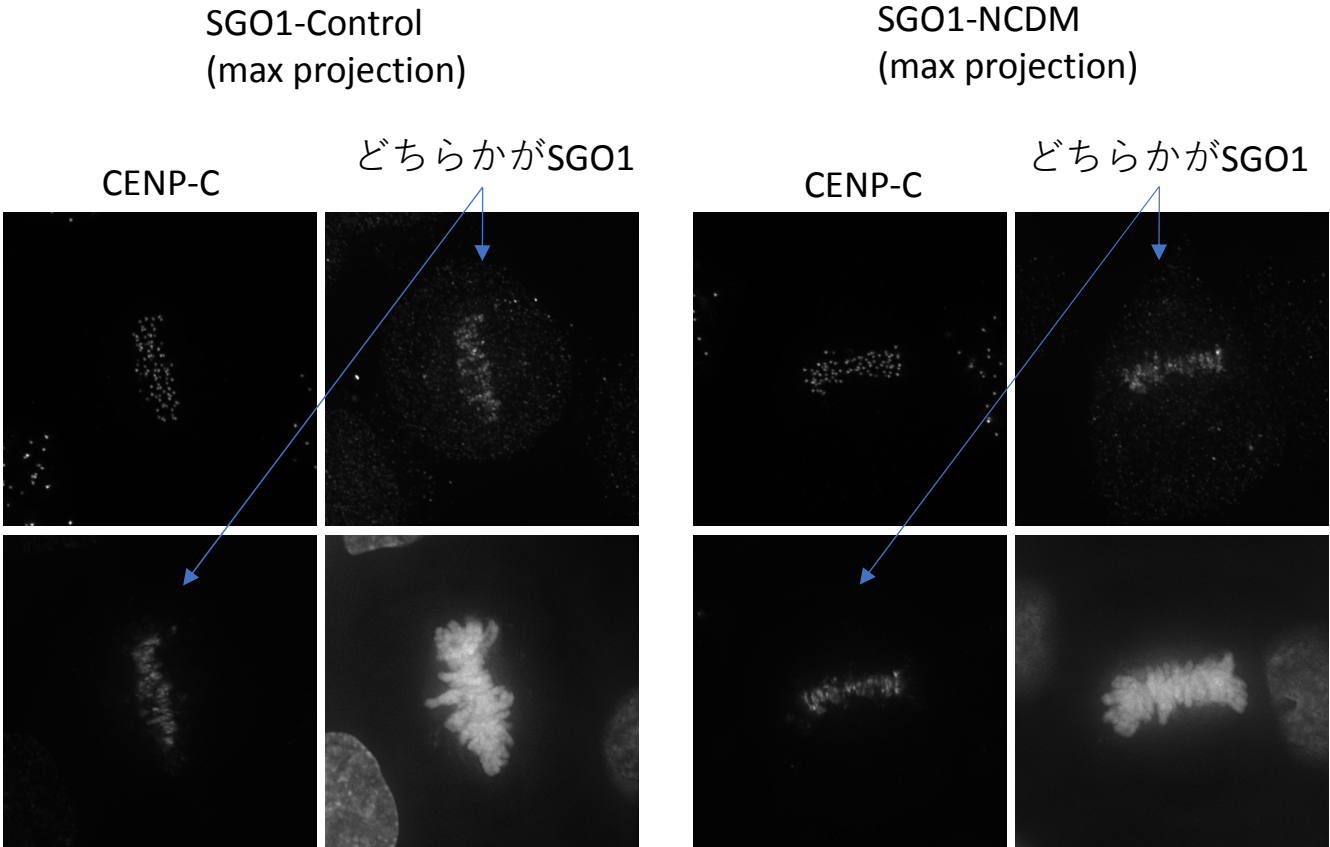
改ざん

Figure S11

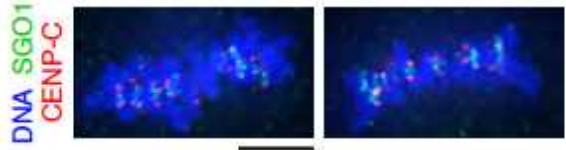
(この場合の画像取得条件は同一)



論文ではSgo1には大きな差がある (全か無か)

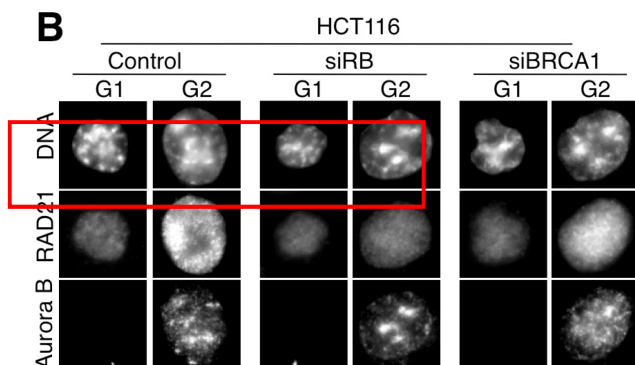


実際のデータではSGO1シグナルにほとんど差はみられないが
コントラスト調整により差があるように改ざんしている



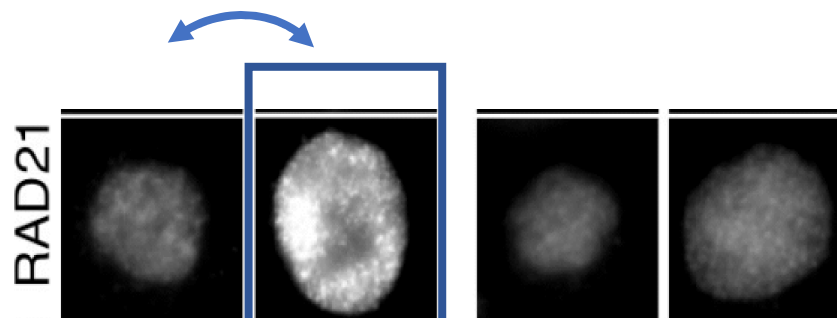
渡邊氏のHPより訂正図

Figure S12

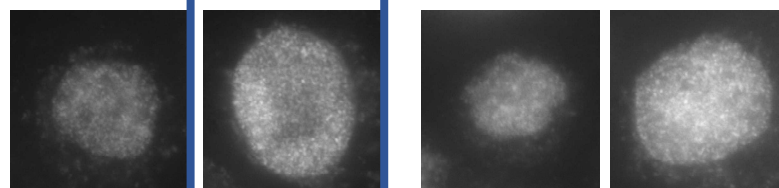


論文では差があるように見せかけている

論文図



生データ



実際は差がない

実際のデータでは4つの画像のシグナルにほとんど差はみられないが極端なコントラスト調整により差があるように改ざんしている（青枠内）