

プロジェクト名(タイトル):

## ALEX 計測による1分子 FRET データの最大エントロピー・クラスタリング解析

利用者氏名:

○岡本 憲二、佐甲 靖志

理研における所属研究室名:

開拓研究本部 佐甲細胞情報研究室

### 1. 本プロジェクトの研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

蛋白質分子の構造は機能と深く関わっており、さまざまな手法で調べられている。しかし、構造可変な蛋白質の、実際の生きた細胞中での構造は明らかになっていない場合が多い。われわれは ALEX (ALternating Laser Excitation) 法を応用し、細胞質中を自由拡散する分子から蛍光バースト信号を検出することに成功した。バーストからは1分子毎に、FRET (Förster resonance energy transfer) 効率  $E_{app}$  (色素間距離に対応するため分子構造の手がかりが分かる)、ストイキオメトリ  $S_{app}$  (2色の蛍光ラベルのラベル比)、蛍光バースト強度  $I_{app}$ 、等の情報が得られる。生細胞中の CRAF 蛋白質を計測したバースト分布の例を図に示す。

バースト分布には、さまざまな状態の分子が含まれていると考えられるが、われわれは特に CRAF の細胞中でのダイマー形成に注目しており、蛍光バースト強度からモノマーとダイマーの混在状況を判別するデータ解析法を開発した。実験データに適用した例を、図ではモノマー/ダイマー状態の違いを色分けで表した。しかし、装置に問題(顕微鏡への入射光学系の色収差)があり、検出されたモノマー/ダイマー状態がアーティファクトである可能性が明らかになった。以上の経緯を、昨年度の報告書で紹介した。

本年度は、明らかになった問題を解消するため、入射光学系を改良する装置開発をおこなってきた。本課題では、開発された装置で新たに得られたデータを解析した。

### 2. 具体的な利用内容、計算方法

計算法は、昨年度の報告書に記載したものと同一である。以下で簡単に説明する。

ALEX 計測では、各バーストは  $E_{app}$ 、 $S_{app}$ 、 $I_{app}$  値を持つ。モノマー/ダイマー状態は異なる  $I_{app}$  分布を持つため、図のような  $E_{app}$ - $S_{app}$  の2次元分布を考えた時、最大エントロピー法で最適化するクラスタリング解析法を用いることで、それぞ

れの状態の分布が推定できる。

本課題では、C++ 言語を用いたプログラムを自作し、OpenMP を用いた並列化で高速化を図り、特殊関数と逆行列計算に Intel<sup>®</sup> Math Kernel Library を利用した。

### 3. 結果

改造した装置で得られたデータを解析した結果の例を図(b)に示す。装置改造前のデータと比べると、若干異なる傾向の結果が得られた。改造前のデータでは、マイナーなノイズ成分を含めて3成分で表されたが、改造後のデータでは、2成分のみで表され、分布形状も若干異なっている。

### 4. まとめ

装置改造前後で異なる傾向の結果が得られており、正しく解析できている可能性がある。ただし、装置性能の検証が完了しておらず、さらなる検証が必要である。

### 5. 今後の計画・展望

装置性能の検証は間もなく完了する予定であるため、今後は、正しく計測し直したデータを用いて、新たな分子情報を解明する解析に改めてチャレンジしたい。

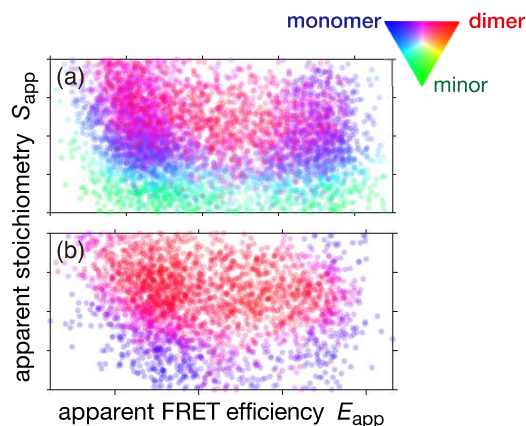


図: ALEX 計測データの解析結果の例。(a)装置改造前。(b)装置改造後。バースト分布が解析結果にもとづいて色付けしてある。