

マイクロコンピュータによる二次元電気泳動法の データ処理システム

The Data Processing System of Two Dimensional Electrophoreses

東郷 剛一*・高井 信治*・斉藤 泰和*

Gouichi TOUGOU, Nobuharu TAKAI and Yasukazu SAITO

1. 目的

蛋白質は生命現象に関係する物質のうちで最も重要な物質の一つであり、生体内における生理的諸活動の変化は、血液その他の生体液中における各種蛋白質成分の量的質的な変化を通じて知ることができる。たとえば免疫疾患や人工臓器の評価においては、血清蛋白質の分析が有効であることが知られている。さて、現在行われている分析手法は生体液中のある特定の成分の量だけに注目したものがほとんどであるが、各種の生体物質は複雑に関係し合っているものも多く、複数の成分間の相互関係や、あるいは単一の成分についてもその質的变化を捕えることができればより的確な知見が得られると思われる。そのためには一回の簡便な操作で試料を可能な限り多くの成分に分離でき、さらに場合によってはその際試料に化学的な変化を及ぼさない分離分析手法が必要となる。

電気泳動法はこれらの条件を満足する方法のひとつであって、試料中の成分をある原理に従って直線上に展開させる。そしてその分離原理にはいくつかの種類があり、異なる二種類を二次元に組み合わせて試料を平面上に展開させれば分離能は格段に向上する。しかし、この二次元電気泳動法は分析結果の判定や定量的な測定が難しいため、今までは十分には利用されてこなかった。そこで本研究ではビデオカメラとマイクロコンピュータからなるデータ処理システムを導入し、血清蛋白質の分析へ応用することを考えた。本論文では主としてデータ処理システムについて説明する。

2. 実験方法

2-1 試料および二次元電気泳動法

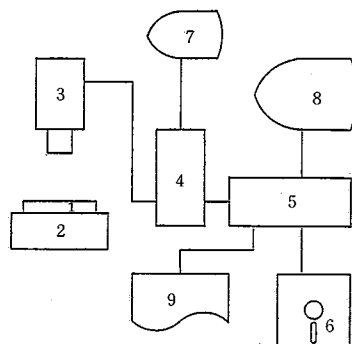
試料の血清は正常なビーグル犬 10 頭から得た。

二次元電気泳動法は代表的なものを採用した。すなわち、一次元目には均一ポリアクリルアミドゲルロッドによる等電点電気泳動法を、二次元目には濃度勾配ポリアクリルアミドゲルスラブによる分子篩電気泳動法を行う

こととした。具体的な実験手順はファルマシア社の手引書に従った。

2-2 データ処理システム

Fig. 1 にデータ処理システムの構成図を Fig. 2 にその写真を示す。1 は泳動、染色を終了したゲルスラブである。2 は照明台である。これは広い面積に渡って均一な照度を得られるものが必要である。3 はビデオカメラである。本研究には CCD 固体撮像素子方式のものを使用



- | | |
|------------------|---------------|
| 1 Sample | 6 Floppy Disk |
| 2 Light | 7 Monitor |
| 3 CCD Camera | 8 Display |
| 4 Image Memory | 9 Printer |
| 5 Micro Computer | |

Fig. 1 Data processing System

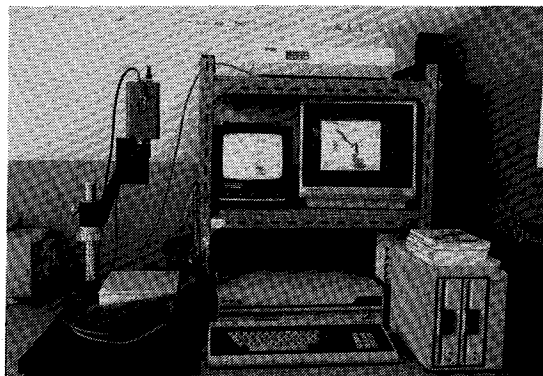


Fig. 2 データ処理システム

* 東京大学生産技術研究所 第4部

しており、通常の撮像管方式のものに比較してゆがみの小さい、画像計測に適した画像が得られる。4はイメージメモリーである。これは画像を小さな画素の集合としてとらえ、1画素ごとにその明るさをデジタルデータで記憶し、同時にモニターに表示する装置である。本研究で使用したものは縦横256×256画素、64階調(6bit)の画像を二面記憶可能で、またマイクロコンピューター本体の拡張メモリーとしての性格を持つため、両者の間にGP-IB、RS 232C等のデータベースを必要としない。5はマイクロコンピューター本体である。各種のデータ処理はイメージメモリーに記憶されているデータに対して本体のCPUが直接行う。6はフロッピーディスクである。画像データを保存するために使用する。7はモニターである。ビデオカメラからの直接の画像と、イメージメモリーからのデジタル画像の両方を表示できる。8はCRTディスプレイである。カラー処理した画像や測定データ等を表示する。9はプリンターである。

2-3 データ処理プログラム

マイクロコンピューター本体の行うデータ処理のフローチャートを Fig. 3 に示し、その個々の処理について説明する。中心的な流れは Fig. 3 に太線で示してある。

(1) Data Input, Smoothing by Integration

画像データのサンプリングと積算平滑化を行う。

(2) Calculation of Relative Data

吸光分析の基本式である Lambert-Beer の式に現れ

る透過度 (transmittance) を求める。まず、試料の画像データと試料を載せない照明台のみの画像データを(1)において得、次に一画素ごとに両者の比を計算して透過計算を行って吸光度 (absorbance) を求める必要があるが、機械語プログラムの複雑さのため現在は透過度を求めるにとどまっている。

(3) Spot Data

(2)で得た透過度データをモニターに表示し、人間の判断によって各スポットを同定し、その濃度、位置等のデータを得る。この処理には次に述べる二種類の機能がある。

最初の機能は、モニター画面上にある蛋白質スポットの中心点をカーソルによって指定すると、その点の透過度およびアルブミンスポットに対する相対位置座標が求められる、というものである。アルブミンスポットはどの試料にも共通して現れる特徴のあるスポットなので基準にとっている。

もうひとつの機能は、ある領域を指定するとその領域の透過度の中心点が求められる、というもので、力学で言う重心を求めることと同じである。この機能は同一個体について特に免疫グロブリンの経時変化を追うためのものである。免疫グロブリンは少しずつアミノ酸配列の異なる蛋白質の集合であり、電気泳動を行わせるとそのスポットは大きく広がったものとなる。したがって免疫グロブリンに変化があれば濃度のほかにその広がり具合にも変化が見られるはずである。この変化を捕える方法のひとつとして中心点の移動を調べるために考えたのが本機能である。また、本機能は計算の途中で指定された領域の透過度の総和を求めており、吸光度による計算が可能になれば定量測定を行う機能の基本となる。

以上の2つの機能を使用して得られたデータは数字の形でCRTディスプレイに表示される。

(4) Image Processing

二面の画像間の和、差を得る。たとえばある個体から時間をおいて採取したふたつの試料の画像データ間の差を求めてモニターに表示し、血清蛋白質全体の経時変化をパターンとして捕えるなどの利用が考えられる。

(5) Coloring

モニターに表示されている64階調のモノクロ画像を16段階化し、CRTディスプレイに6色カラー表示をする。

(6) 3D Graph

ゲルスラブ平面をxy平面に、透過度をz軸に取ったグラフを描く。つまり、各蛋白質スポットをその透過度に応じた高さを持つ山と見て、山の連なりを斜めに上空から眺めることになる。このとき、高さごとに異なる色で

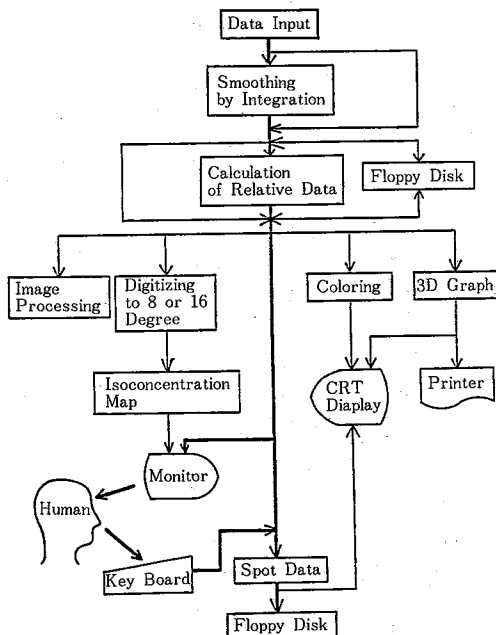


Fig. 3 Flow chart of Data Processing

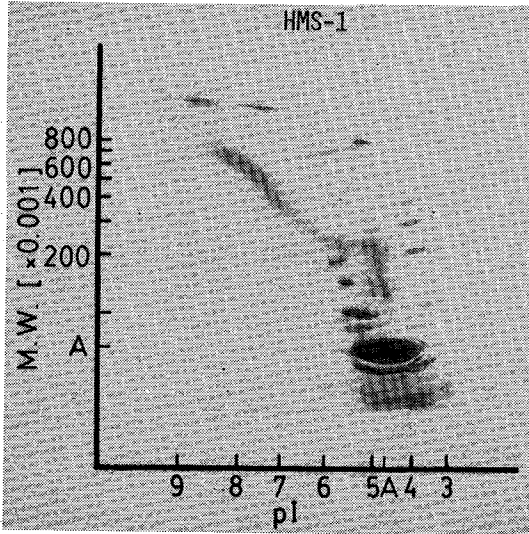


Fig. 4 電気泳動を行ったゲルスラブ

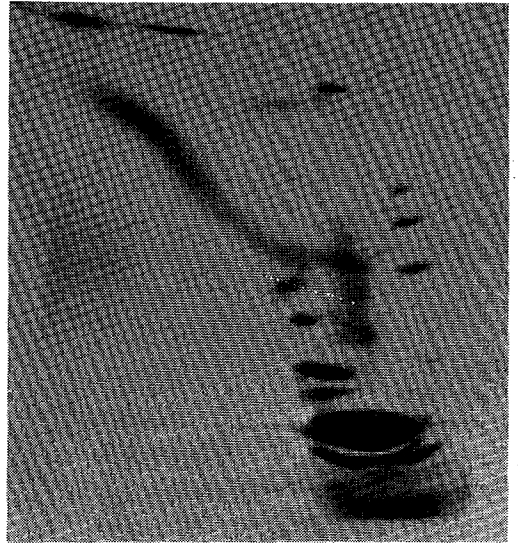


Fig. 5 ゲルスラブのモニター画像

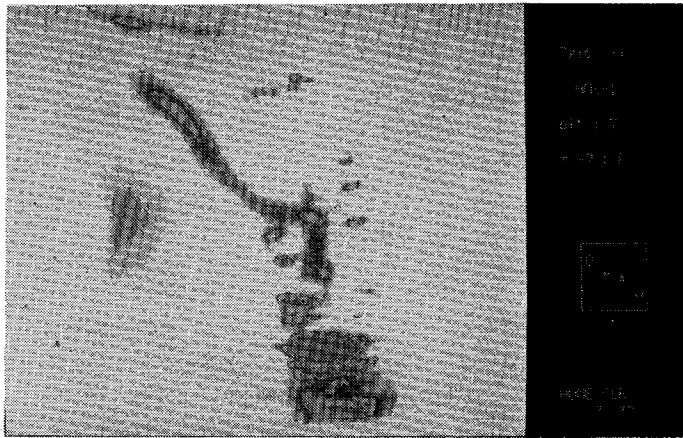


Fig. 6 Coloring 表示

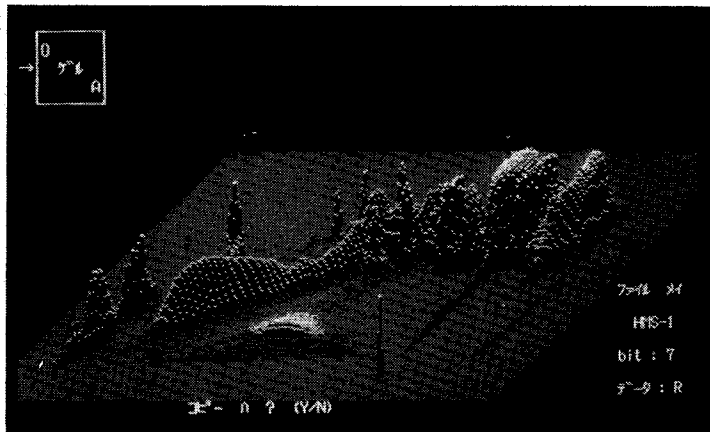


Fig. 7 3D Graphic

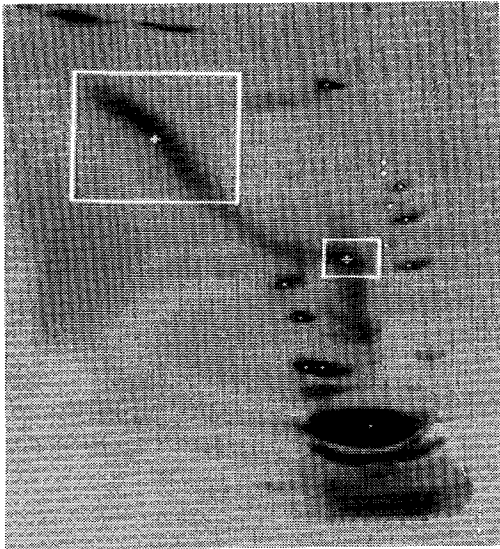


Fig. 8 データ処理途中のモニター画像

表示することも可能である。

以上のデータ処理プログラムにおける使用言語は BASIC と機械語である。全体の制御を行う部分は BASIC が、画像データにする演算処理を行う部分は機械語が主となっている。

3. 結 果

Fig. 4 に電気泳動の結果の一例を、Fig. 5 にそのモニ

ター画像を、Fig. 6 にその Coloring 画像を、Fig. 7 にその 3D Graph 画像を示す。さらに Fig. 8 に Spot Data の処理を行っている途中のモニター画像を示す。四角のわく内が指定した領域で、十字は計算によって求められた中心点を示している。

4. 考 察

本データ処理システムはまだ研究途中であって今後の進展による部分もあるため、現在までに明らかになった点について述べる。

Spot Data の処理のふたつの機能のうち、最初に述べたものは簡便や座標測定法として、次に述べたものは複雑な図形データから数値で表せる特徴を抽出できる点で有効であると思われる。

Coloring と 3D Graph は、スポットの分布を人間がパターンとして把握するうえで、有効な補助手段となると思われる。一般に図形のパターン認識からはさまざまな有益な情報が得られるが、この分解は現在のコンピュータの不得意な分野であり、これらの処理はパターン認識を得意とする人間に対して、データを視覚上の錯覚を考慮しなくとも良いわかりやすい形態で表示できる点で有効であると思われる。

他に、さまざまな改善点があるが、これらは今後の研究に待つものであろう。(1985年5月17日受理)

参 考 文 献

- 1) 電気泳動学会編「電気泳動実験法」(文光堂, 1978)

