

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2023

課題番号：17K18353

研究課題名（和文）階層を超えて分子構造と細胞機能をつなぐ新規1分子粒度計算技法の開発とその応用

研究課題名（英文）Development of a novel single-particle-level simulation technique bridging molecular and cellular structures

研究代表者

海津 一成 (Kaizu, Kazunari)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・上級研究員

研究者番号：80616615

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：一分子粒度シミュレーション技法に分子構造を取り入れ、分子構造と細胞レベルの生命現象を結びつけることを目指した。本研究では第一に、分子を剛体球として扱う従来法に対して、分子の向きと回転拡散、さらに分子表面の一部分のみが反応活性を持つ場合の計算を可能にした。これにより分子の構造と反応部位を計算に反映できるようになった。第二に、三次元空間の自由拡散運動に加えて新たに一次元・二次元を実装し、実際的で複雑な細胞構造を再現できるようにした。第三にクロマチン環境下でのシミュレーションを行い、分子混雑を利用した発現制御を検証した。また、本計算技法をフリーソフトウェアとして公開した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来法（拡張グリーン関数動力学法）は厳密かつ高速に一分子粒度で反応拡散を計算できる手法であったが、分子は剛体球、空間は三次元に限定され現実的な分子や細胞内構造の再現が困難であった。本研究は、厳密性と高速化を維持しつつ、複雑な分子・細胞内構造を含めた計算を実現した。これにより、より現実に近い細胞のモデル化が可能になった。また、本技法の厳密性により、シミュレーションを用いた新規理論の検証・提案を可能にした。さらに、本技法と一分子計測技術を組み合わせることで、これまで局所的な分子機能への影響に限られていた分子構造変化を細胞動態への影響にまで結び付ける新たな計算生物学の基盤技術を公開した。

研究成果の概要（英文）：This study incorporated molecular structure into a single-particle-level simulation technique and linked molecular structure to biological phenomena at the cellular level. Departing from conventional approaches that treat molecules as symmetric spheres, we introduced implementations for molecular orientation and rotational diffusion. Additionally, our method enabled the modeling of cases where only specific regions of the molecular surface are reactive. We also introduced one- and two-dimensional representations to accurately depict realistic cell structures. Third, Simulations conducted under chromatin environments validate the impact of molecular crowding on gene expression regulation. Finally, we made this computational technique accessible as open-source software.

研究分野：計算生物学

キーワード：反応拡散系 システム生物学 細胞シミュレーション 一分子計測

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞は多種多様な分子により構成され、分子の機能や相互作用により様々な細胞機能を実現している。この細胞システムを理解する一つの方法として、分子の動態から細胞の動態を説明する構成的な方法論が挙げられる。例えば、生化学反応モデリングでは酵素反応速度論に基づいて反応ネットワークを構成し、そのふるまいを求める。細胞のように多種多数の要素から構成されるシステムのふるまいを再現するためには計算機によるシミュレーションが不可欠である。生化学反応モデルでは反応ネットワークから常微分方程式を導出し、これを数値計算によって解く。しかしシグナル伝達系などの細胞システムでは、分子の細胞内分布は非均一であり、分子の数も少数で、拡散の影響が無視できない。さらに構造生物学で研究されてきたように、分子そのものの構造やふるまいはそれ自体複雑であり、それらが細胞のふるまいにどのような影響を及ぼしているのかを明らかにすることは困難である。分子と細胞では、長さスケールでナノメートル以下とマイクロメートル以上、時間スケールでマイクロ秒以下とミリ秒以上と現象のスケールにも大きな差があり、モデルも分子スケールと細胞スケールで個別に研究が進められてきた。現在、これらを結びつけ分子と細胞のモデルを扱えるようにすることは計算生物学における重要課題の一つである。

2. 研究の目的

本研究では、一分子粒度の反応拡散計算技法である拡張グリーン関数動力学法を改良し、より複雑な分子や細胞の構造を取り入れることで分子から細胞へ階層を超えたシミュレーションを実現するものである。反応拡散の計算技法としては偏微分方程式による記述が良く知られるが、少数の分子による確率的なふるまいが無視できない細胞内シグナル伝達系には適していない。これに対し拡張グリーン関数動力学法は、分子を剛体球として個別に表現し、グリーン関数を用いてその反応拡散を解くことで厳密かつ高速な一分子粒度シミュレーションを実現した。しかし従来法では、分子の形状は対称な球で拡散も三次元的な自由拡散に限定されてきた。そこで、分子構造（非対称性）や細胞内構造（細胞膜、細胞骨格、DNA）を取り入れ、より現実的な細胞モデルに適用できるよう本技法を拡張する。

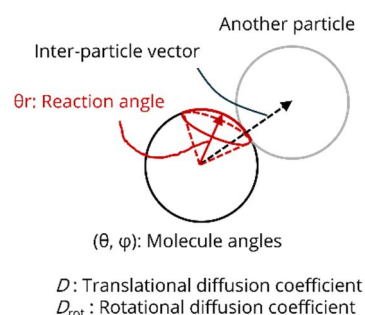
3. 研究の方法

研究代表者らは、まず分子の構造として、これまで剛体球として表現されてきた分子（三次元座標）に新たに向きを表す三変数（回転角）を加え、並行拡散と同時にその回転拡散を解くように拡張する。さらに、これまでは回転拡散は十分に高速であり分子の表面（球面）が一様な反応定数を持つと仮定してきたが、反応面が一部に限られ向きによって反応が変化する非対称な分子構造を取り入れる。次に細胞の構造として（1）一次元や二次元上での単分子の自由拡散、（2）一次元や二次元上での二分子間の反応拡散、（3）三次元から一次元や二次元への単分子の結合（反射）とかい離、のグリーン関数を導出しこれを実装する。さらに、細胞形状が分子や細胞のふるまいに及ぼす影響を検証するために、ポリゴン形状によって表現された細胞膜上での反応拡散へこれを拡張する。また、クロマチン領域の分子混雑下におけるシミュレーションにより、本研究が対象とする分子の構造が細胞の制御に影響を及ぼしうる一例を検証する。

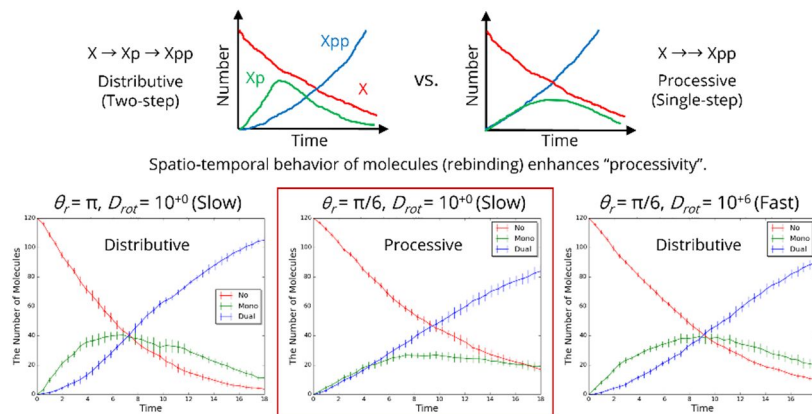
4. 研究成果

（4 - 1）一分子粒度シミュレーションにおける分子構造の拡張

一分子粒度シミュレーション（拡張グリーン関数動力学法）において、反応表面を持つ剛体球として表現されてきた分子に極性を実装した。従来法で各分子の拡散は並行拡散に限定されていた。グリーン関数動力学法では、まず空間を重なり合わない分子を覆う保護球（シェル、殻）に分割し、分子がこの保護球内に留まっている間は他の分子の拡散に影響を与えず、また反応もしないことを利用して多体の反応拡散を厳密かつ高速に解くことを可能にしている。保護球が一分子のみを含む最も単純な場合は、分子の初期位置と保護球面における吸収を境界条件としてグリーン関数を導出し、それに基づき疑似乱数によって分子が保護球面に到達する時刻とその場所を求める。また、他の分子がこの保護球面に接触する可能性がある場合は、途中の時刻において保護球内のどこに分子が位置するかをグリーン関数と疑似乱数により決定する。



本研究では、分子の内部状態を表す二つないし三つの回転角をこれに加えた（前頁図）、分子の回転角は他の分子と接触しない限りは拡散に影響を及ぼさないものとし、座標のグリーン関数と同様に内部状態の時間発展式を導入し、回転拡散を解いた。本実装では、分子の向きへの決定は座標の決定と同期している。本実装は、分子の向きだけでなく分子動力学シミュレーションによって求められた分子構造のゆらぎなど、他の内部状態とその時間発展にも応用可能である。さらに、分子の向きと回転拡散を導入したことで、分子表面の一部分のみが反応活性を持つ場合の計算を実現した。検証として、分子がその表面に一つのパッチを反応面として持ち得るようにした。反応面はその大きさをパラメータとして持つ（角度 $0 \sim 180^\circ$ ）。 180° では従来と同様に表面全体が反応活性を持つ。この実装を用いたシミュレーションにより、一つの酵素分子が基質を連続して修飾する系を計算したところ、回転拡散を考慮した場合、従来よりも強い再結合の影響が確認された（右図）。また、これまでのモデルでは見られなかったマクロスケールの反応速度とミクロスケールの反応速度の関係が観察され、以前実験的に計測された分子混雑下での反応動態との関係性も示唆された。



(4 - 2) 一分子粒度シミュレーションにおける細胞構造の拡張

従来法において、分子の拡散は三次元の自由拡散に限られていた。この場合、主たる厳密解は一分子の拡散と二分子の反応拡散の二種類となる（実際にはこれ以外にいくつかの特殊解を含む）。しかし、例えばシグナル伝達系では最初の反応は細胞表面で起こる（受容体）。このように現実的な問題を扱うには二次元や一次元における分子の反応拡散の実装が不可欠である。そこでこれらに対応した局所解を導出・実装し、より複雑な条件下での厳密計算を可能にした（具体的には、一次元・二次元との結合・かい離、一次元・二次元上での一分子の拡散、一次元・二次元上での二分子の反応拡散）。より複雑な場合として、一次元・二次元上の分子と三次元中の分子の反応拡散が挙げられるが、これは実装していない（オランダ原子分子研究所 ten Wolde 教授との共同研究において一部条件下での導出と実装が行われた）。

さらに、単純な無限平面ではなく細胞の形態などの影響を検証するために、ポリゴン（トライゴン）を用いた複雑な表面上での反応拡散を実装した。本実装では、分子の座標更新におけるポリゴン形状の反映だけでなく、新たなグリーン関数の導出と実装を行った。通常の二次元平面における局所解のみを用いる場合、その保護球（正確には円盤状）はポリゴンの頂点を含むことができない。そのため、計算速度（保護球の径）がポリゴンによって大きく制限されていた。そこで、頂点を高々一つ含むグリーン関数を導出することでこれを解決し、計算速度を向上させた。

またここで導出した二次元平面上での反応拡散の解や厳密計算を利用して、別の一分子粒度シミュレーション技法である微視格子法について二次元平面上での数値計算手法について検証と理論化を行った。微視格子法は、空間をあらかじめ分子と同程度の大きさの六方最密格子に分割し、その格子上を分子が離散的に移動する計算技法である。反応は分子が既に分子が存在する格子へ移動しようとした場合に起こる。本手法はグリーン関数動力学法と比べて非常に高速である反面、厳密性に欠けるといった問題があった。特に二次元平面での反応拡散を厳密に再現するためにはどのような条件（格子の大きさや反応係数、時間幅の関係）が必要か検討する必要があった。そこで、二次元平面における厳密解を元に微視格子法の三次元・二次元上での反応拡散についての精緻な理論を求め、計算精度を保証すると同時にこれまで経験的に用いていたものよりも高い精度を与える格子径に関する式を得た。

これらの成果は、(4 - 1) と合わせて汎用細胞シミュレーション統合環境 E-Cell System バージョン 4 に実装された。E-Cell System は、細胞シミュレーションに必要な様々なシミュレーション技法（上述の一分子粒度シミュレーション技法や常微分方程式ソルバーなど）を実装したもので、対象の生命システムに合わせて解法を選択することができる。本ソフトウェアは、オープンソースのフリーソフトウェア（GNU General Public License v3.0）として公開されており、誰でも自由に理由することができる（<https://ecell4.e-cell.org/>）。

(4 - 3) 分子混雑下における反応拡散の一分子粒度シミュレーション

研究代表者は国立遺伝学研究所の前島教授との共同研究により、クロマチン環境などの分子

混雑下で分子の大きさや形状が遺伝子発現などのゲノム制御に影響を与えている可能性を示した。高等真核細胞のゲノムは核内に複雑に閉じ込められ非均一な凝集構造を取り、細胞周期や複製と関連してその構造を変えている。このゲノムの凝集構造では、ヌクレオソーム分子が高い濃度で存在する分子混雑下にある。制御分子は分子混雑内を拡散する必要があるため、拡散と制御はその分子の大きさや形状によって影響を受ける。さらに、ヌクレオソーム分子の濃度だけでなくその動きの違いによっても反応速度が変わるため、クロマチン構造を制御することによって反応をも制御できることをシミュレーションによって検証している。本研究の拡張によって、より現実的な分子や複合体の構造がゲノム制御に及ぼす影響について研究を進める計画である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nishida Kozo, Maruyama Junichi, Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi, Yugi Katsuyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Transomics2cytoscape: an automated software for interpretable 2.5-dimensional visualization of trans-omic networks	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 npj Systems Biology and Applications	6. 最初と最後の頁 16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41540-024-00342-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Jacopin Elliott, Sakamoto Yuki, Nishida Kozo, Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi	4. 巻 10
2. 論文標題 An architecture for collaboration in systems biology at the age of the Metaverse	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 npj Systems Biology and Applications	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41540-024-00334-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi	4. 巻 65
2. 論文標題 Technologies for whole cell modeling: Genome wide reconstruction of a cell in silico	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 554 ~ 564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12897	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Watabe Masaki, Yoshimura Hideaki, Arjunan Satya N. V., Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi	4. 巻 102
2. 論文標題 Signaling activations through G-protein-coupled-receptor aggregations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 32413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.102.032413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watabe Masaki, Arjunan Satya N. V., Chew Wei Xiang, Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi	4. 巻 100
2. 論文標題 Cooperativity transitions driven by higher-order oligomer formations in ligand-induced receptor dimerization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 62407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.100.062407	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watabe Masaki, Arjunan Satya N. V., Chew Wei Xiang, Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi	4. 巻 100
2. 論文標題 Simulation of live-cell imaging system reveals hidden uncertainties in cooperative binding measurements	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 10402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.100.010402	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chew Wei-Xiang, Kaizu Kazunari, Watabe Masaki, Muniandy Sithi V., Takahashi Koichi, Arjunan Satya N. V.	4. 巻 99
2. 論文標題 Surface reaction-diffusion kinetics on lattice at the microscopic scale	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 42411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.99.042411	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Chew Wei-Xiang, Kaizu Kazunari, Watabe Masaki, Muniandy Sithi V., Takahashi Koichi, Arjunan Satya N. V.	4. 巻 98
2. 論文標題 Reaction-diffusion kinetics on lattice at the microscopic scale	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 32418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.98.032418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sokolowski Thomas R., Paijmans Joris, Bossen Laurens, Miedema Thomas, Wehrens Martijn, Becker Nils B., Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi, Dogterom Marileen, ten Wolde Pieter Rein	4. 巻 150
2. 論文標題 eGFRD in all dimensions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 054108 ~ 054108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5064867	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hiroshima Michio, Pack Chan-gi, Kaizu Kazunari, Takahashi Koichi, Ueda Masahiro, Sako Yasushi	4. 巻 430
2. 論文標題 Transient Acceleration of Epidermal Growth Factor Receptor Dynamics Produces Higher-Order Signaling Clusters	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 1386 ~ 1401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2018.02.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 海津一成
2. 発表標題 大腸菌を計算機上にまるとモデリングする
3. 学会等名 第19回21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 海津一成
2. 発表標題 大腸菌を計算機上にまると再構成する
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会16.0
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 海津一成
2. 発表標題 大腸菌をゲノム配列からまるごとモデリングする
3. 学会等名 日本遺伝学会第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 海津一成, 西田孝三, 高橋恒一
2. 発表標題 ゲノム配列から大腸菌をまるごとモデリングする”, 第22回日本蛋白質科学会
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazunari Kaizu
2. 発表標題 Whole-cell modeling of a bacterial cell from its genomic sequence
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazunari Kaizu
2. 発表標題 Whole-cell Modeling of a Bacterial Cell from Genomic Sequence
3. 学会等名 第4回ExCELLSシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 海津一成
2. 発表標題 細胞モデリングを自動化する
3. 学会等名 情報計算化学生物学会2020年大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kozo Nishida, Kazunari Kaizu, Masaki Watabe, Koichi Takahashi
2. 発表標題 E-Cell System version 4: An integrated platform for cell simulations
3. 学会等名 International Conference on Systems Biology 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 海津一成
2. 発表標題 全細胞シミュレーションとは何か
3. 学会等名 第40 回日本生物学的精神医学会・第61 回日本神経化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 海津一成
2. 発表標題 E-Cell System: from a single molecule to a whole cell
3. 学会等名 日本生物物理学会第55回年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

統合細胞シミュレーションソフトウェア基盤E-Cellシステムバージョン4
<https://ecell4.e-cell.org/>
バイオイメージングシミュレーターScopyon
<https://github.com/ecell/scopyon/>
各種グリーン関数動力学法の実装を含むライブラリ
https://github.com/ecell/greens_functions

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------