

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20740243

研究課題名（和文） 細胞内環境を想定した反応拡散系モデリング

研究課題名（英文） Reaction-diffusion modeling for intracellular environment

研究代表者

富樫 祐一（TOGASHI YUICHI）

神戸大学・大学院システム情報学研究科・講師

研究者番号：50456919

研究成果の概要（和文）：

細胞の活動は主として化学反応により維持されている。ところが、細胞内は、タンパク等の高分子で非常に混雑し、膜・細胞骨格などの構造や、酵素をはじめ動き（構造変化）を通じて機能する分子機械が存在するなど、特異な環境にある。このような、これまでの研究で捨象されがちであった細胞内環境の特徴が、反応過程にどのような影響を及ぼしうるかを考察した。反応が活発に起こる領域と不活性な領域との分離など、分子混雑と分子機械の動きの双方が関与した時空間パターンが観察され、細胞内における分子の「動き」の重要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The activities of biological cells are maintained by chemical reactions. The environment in the cell is however distinct from typical macroscopic reactors; cells are highly crowded with macromolecules including molecular machines (e.g. enzymes), whose function is coupled with the active molecular motion, and also complex structures such as membranes and cytoskeletons. We investigated how these features of the cell may affect the reaction-diffusion behavior. We found spatiotemporal patterns in which both molecular crowding and machine motion are involved, which suggest significance of molecular "motion" in the cell.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：理論生物物理学

科研費の分科・細目：物理学・「生物物理・化学物理」

キーワード：生物物理学、分子機械、細胞、超分子混雑、自己組織化、反応拡散系、位相振動子系、時空間パターン

1. 研究開始当初の背景

チューリングによる生物の形態形成に関する先駆的な研究（1952年）以来、生体に見られる諸現象を反応拡散系としてモデル化する研究は数多くなされてきた。これは、マクロな個体レベルに限らず、個々の細胞についても同様である。

ところが、細胞内の環境を反応拡散系としてとらえた場合、

- ・存在量（濃度）・反応速度の大きく異なる多種多様な成分・反応が関与しており、時に細胞当たり少数個の分子しか存在しない成分も含まれる。
- ・生体高分子は構造の異なる複数の状態を取りえ、反応が状態に左右される場合がある。また、ATP分子などによってエネルギーを供給され、非平衡な状態を維持して能動的に動き続けるものもある。
- ・高分子で混み合った（充填率の高い）環境であり、複雑な膜構造や細胞骨格、分子モーターによる能動輸送などが存在するため、分子の移動が必ずしも通常の拡散に従わない。

といった特徴がある。それゆえ、細胞内の反応拡散過程に対しては、従来の反応拡散方程式（各成分の濃度を変数とした偏微分方程式）を用いたモデリングが有効とは限らない。これまでの手法では表現されない重要な現象が存在する可能性がある。

そのため、細胞のより良いモデリングと理解に向けて、上記のような特徴を考慮できるモデリング手法を開発し、シミュレーションを通じて新たな現象の可能性を探ることが望まれた。

2. 研究の目的

本研究では、反応拡散系に、前項で述べたような細胞内における反応拡散過程の特徴が加わった場合に、従来の反応拡散方程式で表現される系とはどのような違いが生ずるか、特に、反応速度の異常や特異な時空間パターンが見られないかを明らかにすることを目的とした。これは、将来的に、細胞内の情報伝達やパターン形成過程をモデル化しそのメカニズムを解明することに寄与することを意図したものである。

3. 研究の方法

実際の細胞内は、多種多様な成分が存在し、空間的にもヘテロな環境にある。しかしながら、それら全てを取り込んだモデルを構築した場合、計算量が増大しシミュレーションが困難となるのみならず、個々の要素の与える影響の理解が困難になることが予想された。そのため、本研究では、先に述べた細胞内環境の特徴を考慮でき、かつ、できる限り単純なモデルを構成することにより、その影響を

考察することを目指した。

(1) 分子機械の内部状態と構造変化を考慮した反応拡散モデルの構成

① 細胞内部や膜が高分子で混雑していることの影響に注目し、分子機械をその状態に依存して形状の変化する粒子として表現することにより、分子間の力学的な相互作用が反応に及ぼす影響を表現する簡単なモデルを構成した。分子機械の状態は1個の変数（位相）で表現されるものとした（図1・中段）。最も単純な場合として、円板状（2次元）・球状（3次元）の粒子を考え、粒径が状態変数に依存して変化するとした。接触粒子間にはrepulsive Lennard-Jonesポテンシャルで表現される反発力が働くものとし、ブラウン動力学法を用いて拡散シミュレーションを行った。本研究では、混雑の影響が顕著に現れやすい2次元（膜面上での拡散などを想定）の場合を主な対象としたが、3次元でも同様に行うことができる。

② 上記のモデルでは、内部状態に周囲の粒子が及ぼす影響を、接触粒子間の相互作用ポテンシャルを介して容易に導入することができる（端的には、位相の進行に伴い粒径が増加する（開いた構造に変化しようとする）時に周囲から圧力を受けると、位相の進行が阻害される、といった効果）。周囲からの影響の受けやすさは、1個のパラメータで表される。また、位相変数間の相互作用を陽に入れることもできる。これらを用いて、混雑環境下での隣接分子機械間の力学的な相互作用をモデル化した。

③ 以上に加え、接触粒子間で起こる反応（分子の種類もしくは状態の変化）を導入した。反応のモデルとしては様々なものを用いることが可能であるが、本研究では、先行研究と同様の酵素反応モデル（図1・下段）を用いつつ、基質や生成物も粒子として表現することにより、各分子の排除体積を考慮した反応拡散モデルを構成し、シミュレーションを行った。

前述のモデルは、酵素などの分子機械が、分子構造として特徴付けられる内部状態を持っていることを前提としている。この点について補足すべく、下記2項目の研究をあわせて行った。

(2) 先行研究で用いた酵素反応モデル（図1・下段）における、ゆらぎの影響の精査

酵素反応を含む反応拡散系における、分子内ゆらぎ（内部状態のゆらぎ、反応終結待ち時間の変動）と分子間ゆらぎ（分子の衝突・反応における確率的ゆらぎ、反応開始待ち時間の変動）の影響を、解析的手法とシミュレーションの組み合わせにより考察した。

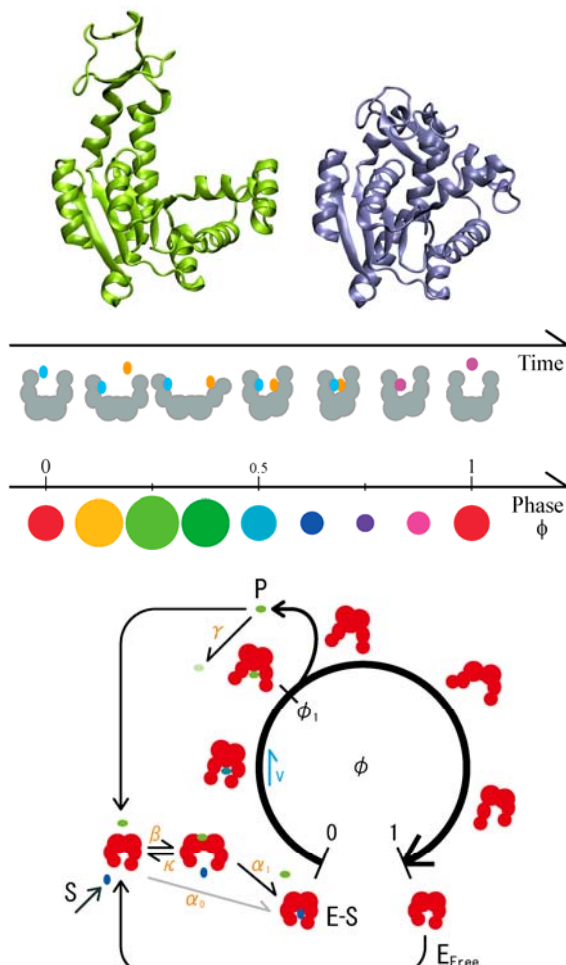


図1 分子機械の構造変化とモデリング

上段：酵素の構造変化の例（アデニル酸キナーゼ）。反応のサイクルと構造変化が密接に関係しており、基質を結合して閉じた（右図）状態の時に反応が起こる。図は Protein Data Bank ID: (左) 4AKE・(右) 1AKE の構造データを用いて作成した。中段：本研究で用いたモデル。分子の内部状態を1個の変数（位相 ϕ ）で表現した。この状態変数に依存して形状（粒径）の変化する粒子として、各分子機械を表現した。

下段：先行研究 [V. Casagrande, Y. Togashi, A. S. Mikhailov, Phys. Rev. Lett. 99, 048301 (2007)] で用いた酵素反応モデルの模式図。上と同様に分子の内部状態を1個の位相変数で表現した。基質が結合すると位相 ϕ は0にリセットされ、そこから進行が開始する。ある点 ϕ_1 に達すると生成物を放出し、終点1に達すると次の基質との結合が可能となる。生成物を介したアロステリック活性化（反応開始確率の変化）がある場合に、酵素の位相の同期した時空間パターンが見られた。

本研究では、上記のように、先行研究では無視していた分子の排除体積（形状）を陽に導入し、それが内部状態に依存して変化すると仮定することで、周辺環境と内部状態との相互作用の考察を可能にした。

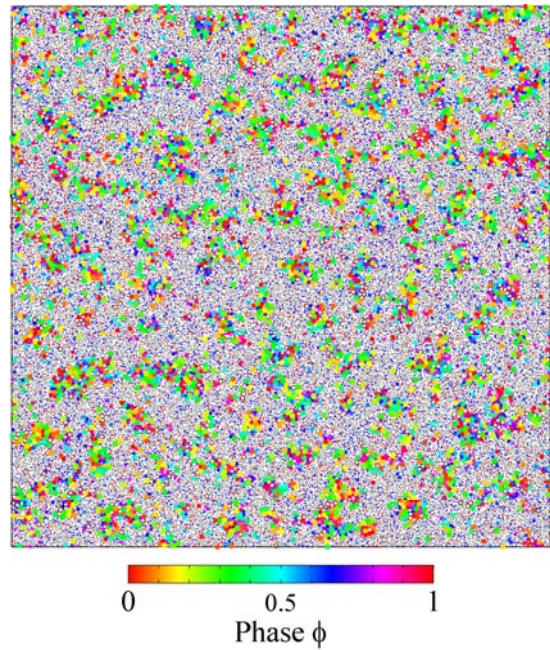


図2 観察されたパターンの例 (3. (1)③の酵素反応と組み合わせたモデル、2次元)。大きな粒子が分子機械に対応し、色は状態（位相 ϕ ）を表している。小さな粒子は基質・生成物、その他の低分子に対応する。

(3) 粗視化分子動力学計算による、分子機械の力学的特徴の検討、1次元（ないし低次元）的な構造座標の成因の考察

分子機械の内部状態を1個の状態変数（位相）で表現したことは、分子機械が大きな分子であり多数の内部自由度を持つことを考えると、強い仮定であるといえる。これを正当化しうるいくつかの実験結果はあるものの、その背景を理論的に、ないしシミュレーションを用いて考察することが望まれた。

本研究では、弾性ネットワークモデルによる粗視化分子動力学シミュレーションを用いて、分子構造変化に1次元的な経路が生ずるメカニズムを説明することを試みた。

加えて、研究を効率的に進めるため、下記の課題にも取り組んだ。

(4) 前記のモデルを用いた反応拡散シミュレーションのための、GPU (Graphics Processing Unit) 計算に適したアルゴリズムの検討と実装を行った。

4. 研究成果

(1) 前記 3. (1)①②の分子機械モデルを用いたシミュレーションにおいて、粒径の変化による分子の再配置を伴う、特徴的な進行波パターンが現れた。系の密度、粒子の移動度、状態変数のゆらぎの大きさを変化させた場合に、状態の時空間パターンや反応速度が相転移的に変化するのが観察された。

(2) 粒子間の反応を陽に導入してモデルを拡張した(3. (1)③)。酵素反応を想定し、状態に依存した基質結合と生成物解離、並びに、制御物質の結合による活性の変化を導入した。特に、先行研究と同様に、生成物により酵素が活性化される(正のフィードバックが存在する)場合に注目した。

この場合に、分子機械の動作が、分子間に隙間を生じさせ基質・生成物の流れを引き起こすことにより、不活性な分子機械のクラスターと、活性化された分子機械を含む流路との分離が生ずる場合があることが示された。

(3) 実際の細胞内には多様な分子が存在することから、低分子を含め複数種の分子が混在する場合にモデルを拡張した。これにより、上記(1), (2)で示した結果が、分子機械の密度が低く、その間に溶媒・脂質等の低分子が存在する、より現実的な状況においても概ね成立する(但し、分子機械間の相互作用は一般に弱まる)ことが示された。また、分子機械と低分子とが分離したパターンも観察された。

(4) 以上について、パターンの発生条件や時空間スケールなどの詳細を検討するとともに、実際の細胞内環境における現象の可能性を考察した。特に拡散が遅い場合に、分子機械の動きが周囲の基質や生成物の輸送の様相を大きく変化させ、空間的な構造(クラスター)の安定性にも影響することが示された。

(5) 反応容器の形態(例えば細胞の形状)と内部の反応の様相との関係についても考察を試みたが、この点については明確な結論を得るには至らなかった。実際の細胞においては、細胞の形状という境界条件とその変化が、細胞の機能の上で大きな意味を持っている。また、力学的に(外力として)与えられた情報の流れという観点からも興味深い。今後、引き続き検討すべき課題であると考えられる。

(6) 先行研究で考察した、酵素反応を含む反応拡散系(図1・下段)におけるゆらぎの影響について再考し、新たな解析を加えて明確化を図った。

分子内ゆらぎと分子間ゆらぎが異なる効果を持つことは、これまでも定性的には示されていた。本研究では特に、分子内ゆらぎの影響について、先行研究で用いた手法(各モードの安定性を固有値問題に帰着する)を拡張することで、(固有値問題そのものは数値的にしか解けないことを除き)解析的に取り扱うことができることを示した。

(7) 粗視化分子動力学シミュレーションを用いて、様々な分子機械の構造緩和過程の特徴付けを行った。弾性ネットワークモデルを用い、ランダムな構造歪みからの緩和過程と、既知構造間の構造変化過程についてシミュレーションを行った。

分子機械の種類によっては、緩和過程に著しい非線形性があり、従来の基準振動解析が基準となる平衡構造のごく近傍でしか成立しない場合があることが示された。しかし、このような場合であっても、構造緩和の経路そのものは概ね構造への摂動に対して頑健であり、1次元的な構造座標を用いて緩和過程を表現することが可能であった。これは、図1・下段のような状態変数(構造座標・反応座標)の妥当性を、間接的にはあるが支持する。

(8) シミュレーションの高速化のため、GPU計算に適したアルゴリズムの検討と実装を行った。しかしながら、本研究で用いたモデルの範囲においては、系が単純でデータ当たりの計算量が小さいこともあり効果が乏しく、本格的な採用は見送った。今後、より複雑な反応ネットワークについて研究を展開する際には、本研究で開発した手法・コードを活用してシミュレーションを高速化できる可能性がある。

以上に示した結果は、混雑環境下において、分子機械の構造変化と機能との相関が、系の時空間パターンに顕著な効果を及ぼす可能性を示している。即ち、細胞内における分子の「動き」の重要性を示唆している。

今後の展開として、これまで反応拡散系とは独立に研究されてきた、生体分子機械のモデリング・動力学シミュレーションと組み合わせることが考えられる。これにより、化学的・力学的相互作用が複合したシステムである細胞の振舞いの理解に役立つものと期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ①Yuichi Togashi, Modeling Bio-Molecular Machinery in the Complex Environment inside the Cell, Proceedings of 2011 IEEE/IPSJ International Symposium on Applications and the Internet, 266 (2011), 査読有.
DOI: 10.1109/SAINT.2011.50

[学会発表] (計14件)

- ①Yuichi Togashi, Modeling of Molecular Networks in the Cell: Minority and Crowd, Brock-Kobe Bilateral Workshop on Scientific Computation (招待講演), 2012年5月22日, 神戸大学(兵庫県)
- ②富樫 祐一, 生体分子機械システムの構造形成～障壁と分子構造変化の効果, 日本物理学会 第67回年次大会, 2012年3月25日, 関西学院大学(兵庫県)
- ③Yuichi Togashi, Modeling Bio-Molecular Machinery in the Complex Environment inside the Cell, The 11th IEEE/IPSJ International Symposium on Applications and the Internet (SAINT2011) (招待講演), 2011年7月19日, Holiday Inn Munich City Centre (ドイツ)
- ④富樫 祐一, 混雑した細胞内環境における分子機械システム～反応拡散と力学的相互作用が交錯する系のモデリング, 定量生物学の会 第3回年会, 2010年11月27～28日, 東京大学(東京都)
- ⑤富樫 祐一, 柳田 敏雄, Alexander S. Mikhailov, 生体分子機械の構造変化と非線形性, 日本機械学会 第23回計算力学講演会 (CMD2010), 2010年9月23日, 北見工業大学(北海道)
- ⑥ 富樫 祐一, Formation of Reaction-Diffusion Pathways by Molecular Machines in the Crowded Intracellular Environment, 日本生物物理学会 第48回年会, 2010年9月21日, 東北大学(宮城県)
- ⑦富樫 祐一, 混雑した反応拡散系における分子の内部状態と粒子性の効果, 日本物理学会 第65回年次大会, 2010年3月21日, 岡山大学(岡山県)
- ⑧富樫 祐一, 混雑した細胞内環境における分子機械システムの振舞い, 日本生物物理学会 第47回年会, 2009年10月30日, アスティとくしま(徳島県)
- ⑨富樫 祐一, 細胞内分子機械システムの反応拡散系モデリング, 理研シンポジウム「細胞システムの動態と論理」, 2009年4

月10日, 理化学研究所 基幹研究所(埼玉県)

- ⑩富樫 祐一, 混雑した細胞内環境における分子機械システムの反応拡散過程, 日本物理学会 第64回年次大会, 2009年3月30日, 立教大学(東京都)

[その他]

ホームページ等

<http://www.togashi.tv/lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富樫 祐一 (TOGASHI YUICHI)

神戸大学・大学院システム情報学研究科・講師

研究者番号: 50456919

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし