

課題名 (タイトル) :

高性能生化学ネットワークシミュレーションの研究

利用者氏名 : ○高橋 恒一, 海津 一成, サティア・アルジュナン, 渡部 匡己, 岩本 一成, 西田 孝三

所属 : 神戸研究所 生命システム研究センター 生命モデリングコア 生化学シミュレーション研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

分子生物学および生化学が飛躍的に発展し、それらの実験事実の検証や理解のため、コンピュータシミュレーション (細胞シミュレーション) も同時に発展してきた。近年、共焦点レーザー顕微鏡や全反射照明蛍光顕微鏡の登場により、細胞内のタンパク質を一分子レベルで観測可能となった。それに伴い、細胞シミュレーションの分野でも、タンパク質ネットワークに基づく従来のシミュレーション技法から、タンパク質を一分子レベルで記述するシミュレーション技法 (一分子粒度シミュレーション) の需要が高まりつつある。一分子粒度シミュレーションが対象とする生命システムは細胞の環境応答や発生・分化など多岐にわたり、とりわけ、分子の少数性や局在、混雑状況等の細胞環境の影響を検証することが可能となる。一分子粒度シミュレーションの先行研究では、タンパク質の二重リン酸化モチーフの持つ双安定性や超感受性に、分子混雑がおよぼす影響を検証・予測しており (Takahashi et al., 2010)、この予測は、後に wet 実験により確認された (Aoki et al., 2011)。つまり、一分子粒度シミュレーションと wet 実験を組み合わせることで、細胞特異的な反応系の特性を明らかにすることが可能となる。本研究では、一分子粒度シミュレーションの技術開発および細胞システムへの応用を目指している。

2. 具体的な利用内容、計算方法

本研究では、一分子シミュレーション技法として、改良グリーン関数動力学法 enhanced Green's Function Reaction Dynamics (以下 eGFRD 法、Takahashi et al., 2010) 法と微視格子法 (Spatioocyte, Arjunan et al., 2009) と呼ばれる 2 種類の技法を、対象とする系の特徴に応じて使い分けている。

2-1 eGFRD 法を用いた細胞の分子濃度検知

限界に関する理論の検証

eGFRD 法は厳密解を用いる手法としては現在世界最高性能の一分子粒度シミュレーション技法である。超多体問題である空間連続な一分子粒度反応拡散計算を行うため eGFRD 法では空間を分子の周囲で局所的に分割した上で厳密解を適用し、イベント駆動型シミュレーションを行うことで飛躍的な高速化に成功した。

本年度は前年度に引き続き、近年二つの理論 (Berg & Purcell, 1977 ; Bialek & Setayeshgar, 2005) で争われていた細胞による分子濃度検知限界の eGFRD 法を用いた計算による検証を行い、論文にまとめ、発表した (Kaizu et al., 2014)。

2-2 並列化 Spatioocyte 法 (pSpatioocyte) の開発および MAPK cascade への適用

Spatioocyte 法は、格子ベースのモンテカルロ法で、比較的大規模な系のシミュレーションに有用である。前年度に引き続き、Spatioocyte 法の並列化およびそのチューニングを実行した。そして、本年度は、pSpatioocyte を利用して、分子混雑がネットワークダイナミクスにおよぼす影響を精査した。対象の系としては、細胞内のシグナル伝達経路に頻出するネットワークである二重リン酸化モチーフが 2 つ組み合わさった系 (MAPK cascade、図 1) を選択した。

3. 結果

3-1 バーグ・パーセル限界の高速計算機・高性能アルゴリズムを用いた詳細な検証

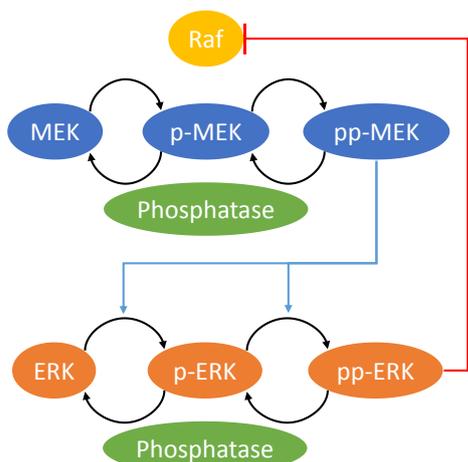


図1 MAPK カスケードモデル

細胞の分子濃度検知の理論であるバグ・パーセル限界を検証するにあたり、結合かい離定数・拡散速度・分子直径・分子濃度など様々なパラメータ条件下について非常に長い時間にわたるシミュレーションを各数十回の試行行う必要があった。本研究は RICC を用いてこれまでも行われてきたが、本年度は論文を投稿するにあたり、特にリバイスに必要となる追加計算のために利用した。生物学的に妥当な条件下だけでなく、理論が仮定するいくつかの条件を満たさない特別な場合についても詳細な検証を行うため、高濃度な分子濃度下における計算を行った。また eGFRD 法は確率論的シミュレーションであるため、試行回数を増やし、より精細な結果を得るためにも用いた (図 2)。

最終的に本研究の成果は、*Biophysical Journal* 誌上において 2014 年度 2 月に発表された。

3-2 MAPK cascade における分子混雑の影響

まず、分子混雑でない状況における MAPK cascade のダイナミクスを調査した。この経路においては、上流の MAPKKK を入力とし、下流の MAPK-PP を出力と定義した。また、本モデルのキネティックパラメータは既存モデル (Hornberg et al., 2006) の値を利用し、各タンパク質の初期濃度は、wet 実験により測定された値 (Fujioka et al., 2006) を利用した。MAPKKK の実験値を 100% として、70, 50, 30, 10% と変化させた場合のシミュレーションを実行した (図 3)。MAPKKK が 30%

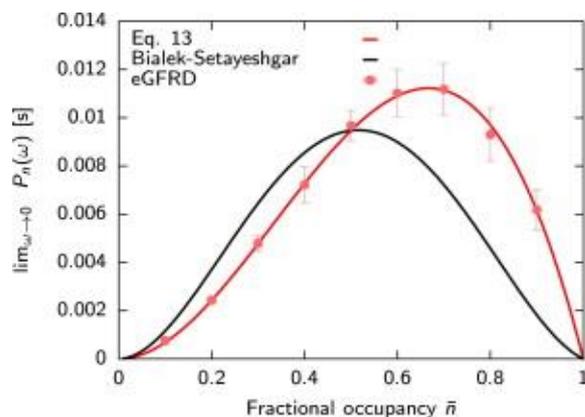


図 2 バグ＝パーセル限界とビアレックらの理論の検証結果

以上の場合、MAPK-PP は一過性応答 (transient 型ダイナミクス) を示し (図 3 A)、10%以下の場合、MAPK-PP のピーク値は大きく低下し、そのダイナミクスは飽和型を示した (図 3 B)。このような MAPK-PP の一過性応答は、様々な細胞のシグナル伝達経路においてよく見られるダイナミクスである。次に、分子混雑の状況下で、同様のシミュレーションを実行し、MAPKKK の値に対する MAPK-PP のピーク値の応答を、分子混雑がない場合の結果と比較した (図 4)。図 3 A より、MAPKKK が 50%以上の場合、MAPK-PP のピーク値に対する分子混雑の影響は殆ど見られなかった。一方、MAPKKK が 30%以下の場合、MAPK-PP のピーク値は大きく上昇しており (図 4 A)、特に、MAPKKK が 10%の場合、MAPK-PP のダイナミクスは、飽和型から一過性応答へと大きく変化した。以上の結果より、分子混雑は、MAPK cascade の入力が高い場合の応答が引き上げ、このネットワーク自体が本来持つ応答可能な入力の範囲を拡大する事が示唆された。本年度は、1 パターンのパラメータセットしか検証する事ができなかった。今後、他のパラメータセットの場合、分子混雑がどのような影響をおよぼすかも明らかにする必要がある。

4. 今後の計画・展望

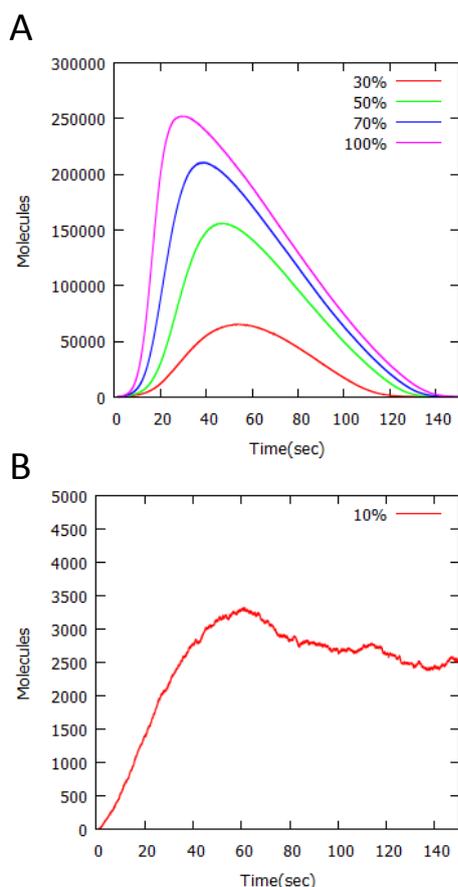


図3 MAPK カスケードモデルのシミュレーション結果。入力値を100, 70, 50, 30%にした場合、一過性応答を示した (A)。入力値 10%の場合、飽和型の応答を示した (B)。

バーク・パーセル限界の理論については発表論文を持って決着をつけたつもりである。しかしながら、複数受容体、特に分子間の協同性がある場合については理論・計算の両面でほとんど検証されていない。実際、今回の単一受容体分子の場合以上の計算時間が必要である。しかしながら、理論の導出の困難なこの問題に新規計算技法を用いて取り組むことは非常に有効な計算機資源の利用法であると考えます。

5. 利用がなかった場合の理由

本年度は、要求計算資源の 5%程度しか利用できなかった。この主な理由は、eGFRD 法では主に論文のリバイス用の計算のみの利用に限り、また Spatiocyte 法では並列化を実装したソフトウ

エアの実装に時間を費やしたためである。

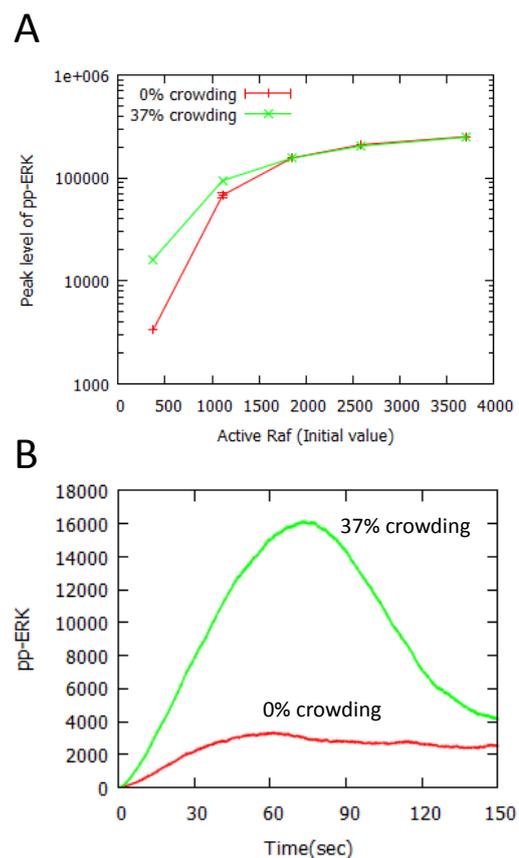


図4 分子混雑の影響。(A) MAPK カスケードモデルの入出力応答の変化。(B) 入力値 10%の場合におけるダイナミクスへの分子混雑の影響

平成 25 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

Kazunari Kaizu, Wiet de Ronde, Joris Paijmans, Koichi Takahashi, Filipe Tostevin, Pieter Rein ten Wolde, “The Berg-Purcell Limit Revisited”, *Biophysical Journal* (2014) **106**(4): 976-85.

【国際会議などの予稿集、proceeding】

【国際会議、学会などでの口頭発表】

海津一成「細胞環境を考慮したシグナル伝達経路の 1 分子粒度シミュレーション」第 2 回スーパーコンピュータ「京」と生命科学~生命科学に取り組む異分野の融合と交流の推進~ (2013) 岡山大学

【その他】

高橋恒一「細胞内分子間の情報伝達効率の理論的上限をめぐる論争に終止符—細胞がいかにかに「感じ」、「考える」かのより深い理解へ—」(2014) 独立行政法人理化学研究所プレスリリース