

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**
小泉 守義*
Satya Arjunan*

所属 :

* 和光研究所 基幹研究所 先端計算科学研究領域
システム計算生物学研究グループ 生化学シミュレーション研究チーム
** 慶應義塾大学大学院理工学研究科

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、生化学の発展に伴い、細胞シミュレーションは計算生物学の中でも重要な分野を築いてきた。近年の FRET や FCS といった 1 分子粒度の計測技術の進歩によって、細胞シミュレーションにおいても空間や各分子のゆらぎを考慮した 1 分子粒度の生化学シミュレーションが求められている。

1 分子粒度の生化学シミュレーションでは 1) 1 千万粒子以上の超多体、2) 数 mM の超高分子濃度下での分子混雑、3) 超多タンパク間相互作用など、従来の手法の延長では解決が困難な多くの問題を含んでおり、大規模並列計算を前提とした高精度・高性能な技術の開発が必要である。

2. 具体的な利用内容、計算方法

前述の 1 分子粒度生化学シミュレーションを目的として開発された新規手法である enhanced Green's Function Reaction Dynamics (以下、eGFRD) 法を用いる。当手法は、GFRD 法とブラウン動力学法、Gillespie 法を組み合わせた手法であり、離散イベントシミュレーションとして逐次計算を行う。これらの手法は確率論的なものであるため、1 回の計算に長時間を要するのみならず、複数回の試行が必要となるため大規模並列計算機の使用が必要不可欠である。

プログラムは GNU C++ Compiler 及び、スクリプト言

語 Python によって記述されており、GNU Scientific Library や Boost などのライブラリを用いている。RICC の利用は今回が初回であるため、eGFRD 法を含むシミュレーション環境 E-Cell 4 の RICC におけるセットアップから行う。

また E-Cell 4 を用いた実際のシミュレーション研究として、RTK/Ras/MAPK 信号伝達経路をはじめとする細胞内生化学ネットワークを対象として、分子局在、分子混雑を考慮した 1 分子粒度生化学シミュレーションを行う。その手掛かりとして実際に 1 分子計測が進められている上皮成長因子受容体 (以下、EGFR) の細胞膜上における拡散・シグナル応答を対象とする。

さらに分子混雑や異常拡散の生物学的な効果や実態を明らかにすることを目的として、細胞核内における分子拡散動態を再現する。細胞核、さらに染色体領域内における分子の拡散は、染色体の微視的な構造を明らかにするだけでなく、転写因子による転写制御が細胞周期の各期や染色体構造によってどのような影響を受けるのかを明らかにするためにも非常に重要である。また実際に FCS などの計測技術によって精緻な実測値が得られている分野でもあり、シミュレーションによる解析が特に有効であると考えられる。転写因子の活性化と転写制御は、シグナル伝達経路における下流部分に当たり、1 分子粒度でのシグナル伝達経路の統合的な理解に向けて重要な意味を持つ。

3. 結果

実際に開発中のシミュレーション環境 E-Cell 4 を RICC において動作させた。現在、C++ Compiler として GNU C++ を用いている。また Python のバージョン互換性の問題等から Python 及び関係する一部のライブラリ群に関しては独自に構築したものを用いる必要があり、用いるスクリプトと共にジョブ投入時にファイル転送することで解決した。これらは RICC に導入されているライブラリが更新されることで容易に改善されると考えられる。

今回動作することを確認した環境を用いて、いくつかのプログラムを実際に実行した。

(1) 脂質ラフトは細胞膜上における EGFR の拡散を変化させ、分子混雑をも生じさせる

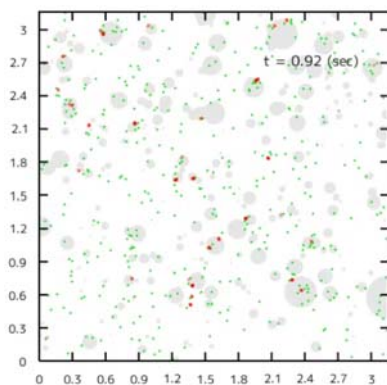


図 1. 脂質ラフト（図中、灰色の領域）と EGFR 分子（緑）の分布の一例

シグナル伝達経路の最上流に位置する受容体の動態を 1 分子粒度で再現するため、細胞膜マイクロドメインのひとつである脂質ラフトを含む細胞膜上における EGFR 分子の拡散を再現した。その結果、ブラウン動力学法を用いて EGFR がラフトによって異常拡散を示すことを確認するとともに、実際の 1 分子計測の結果と比較し、実際の細胞におけるラフトの分布などを考察することを可能にした。また、ラフト上での EGFR のクラスタリングも再現され、特定の条件下ではラフト上での分子混雑の影響も観察された。

(2) クラスタリングはミカエリスメンテン型反応の特性を変化させる

eGFRD 法の RICC 上でのテストケースとして、単純なミカエリスメンテン型反応の 1 分子粒度でのシミュレーションを行った。

非常に単純な酵素反応においても分子の局在が重要な変化をもたらすことを示すため、受容体 (EGFR など) が膜上でクラスタリングしており、細胞質中の分子を基質とした酵素反応を行うとして、反応動態を予測した。その結果、従来の均一系でのシミュレーションと比較して、その特性値 (パラメータ) が大きく変化することが明らかになった。また、この影響は酵素 (すなわち活性化した受容体) の分子数に対し非線形に変化するため、通常のみカエリスメンテン型の反応とは根本的に異なる結果をもたらす。このクラスタリングの効果は基質分子の拡散速度によって大きく影響を受けるため、現実的な効果に関しては実測に基づく詳細な検討が必要だが、1 分子粒度のシミュレーションが従来の均一系のシミュレーションとは根本的な違いを生じうることの一例となった。

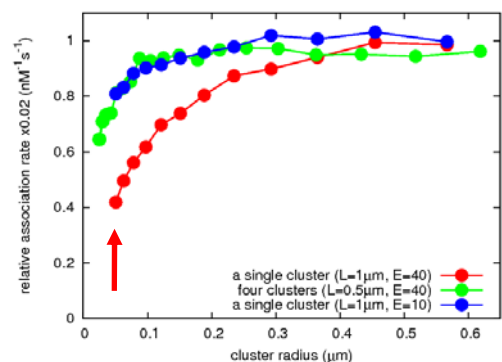


図 1. 酵素分子数及びそのクラスタリング径とミカエリスメンテン型反応特性の関係

(3) 拡散に対する分子混雑による影響を予測し、実測値との比較により、細胞内環境を明らかにする

分子混雑が拡散に与える影響を実測値から予測される条件を用いて予測した。FCS などの手法によって実測された分子の拡散動態と一致する条件を見つけだすことで、細胞内 (核内) 環境を分子混雑の観点から予測することができる。

4. まとめ

E-Cell 4 を実際に RICC 上で動かすことを可能にし、実際に 1 分子粒度シミュレーションをシグナル伝達経路の各段階について適応することで、従来の均一系とは異なる結果を得ることができた。

5. 今後の計画・展望

各シミュレーションはまだプロジェクトの初期段階に当たり、実際十分に有意義な結果をまとめるためには、*in vivo*での 1 分子計測を行っている研究室と協力し、プロジェクトを継続的に進めていく必要がある。

またソフトウェアとしては、超並列計算機への応用などを見据えて、GNU C++ だけでなく Fujitsu Compiler の利用を検討中である。また、前述のような分子混雑下やラージスケールでのシミュレーションを行うためには、eGFRD 法やブラウン動力学法の並列化が重要課題であり、RICC 上での利用も合わせて考察していきたいと考えている。

6. RICC の継続利用を希望の場合は、これまで利用した状況（どの程度研究が進んだか、研究においてどこまで計算出来て、何が出来ていないか）や、継続して利用する際に行う具体的な内容

現在（平成 21 年度 3 月）、申請期間（平成 21 年度 9 月まで）の半期に相当している。実際に 1 分子粒度シミュレーション環境を RICC 上に構築し、いくつかの成果を出し始めた段階であり、これから本格的に運用し、申請期末までにより詳細かつ解析的な結果をまとめる。詳細に関しては前述 3. から 5. を参照のこと。

7. 一般利用で演算時間を使い切れなかった理由

まだ申請期間の中途であり、これまで主にシミュレーション環境の整備に時間を費やしていたため。

平成 21 年度 RICC 利用研究成果リスト

【国際会議、学会などでの口頭発表】

海津一成、E-Cell 4 を用いた EGF 経路の 1 分子粒度シミュレーションに向けて、E-Cell ワークショップ、
2010 年 2 月 10 日、慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス