

粒子シミュレーションによる細胞内分子間相互作用システムの解析

Analyses of molecular interaction network system in a cell by particle simulations

我妻竜三¹, 堤孝弘², 小林弘³, 小長谷明彦^{1,2}

Ryuzo Azuma¹, Takahiro Tsutsumi², Hiroshi Kobayashi³, Konagaya Akihiko^{1,2}

(¹理研 GSC, ²東工大情報工学, ³千葉大薬学研究院)

(¹RIKEN, ²Tokyo Inst. of Technology, ³Chiba Univ.)

e-mail: azuma@gsc.riken.jp

タンパク質などの生体分子の可視化技術の進展により、細胞膜表面上での生体分子の動的な相互作用を観測することが可能となった。細胞内における生理学的プロセスを理解するためには生体レベルでのマクロな現象と分子レベルでのミクロな現象に加え、分子間相互作用や局在化を含めたメゾスコピックな現象に対するシステムバイオロジー的な解析が不可欠である。我々はメゾスコピックな現象を計算機上で再現するために、熱力学的モデルに基づく粒子シミュレータの開発を行っている。

細胞のシグナル伝達がかかわる分子間相互作用のうち、特に細胞膜表面におけるリセプタを中心とした相互作用を対象とした研究が、実験、理論、シミュレーションを問わず広く行われている。ところが、理論やシミュレーションによる解析では細胞膜上における局在(クラスター形成)のプロセスを考慮することは、微分方程式によるモデル化が難しいこともあり、従来避けられてきた側面がある。これにたいして最近、粒子シミュレーションによって細胞膜上における局在について解析を行った研究が行われている[1-3]。これらは主にリセプタのダイマー形成の結合力とクラスター形成の関係を調べたものである。一方、リセプタをはじめとする膜蛋白質を結びつける何らかの弱い力がダイマー形成の力以外に細胞刺激前から存在するのではな

いかという指摘も行われている。この力は”ラフト”と呼ばれる微小ドメインに起因していると考えられている。この微小ドメインであるラフトの意義について調べるため最近我々が行った粒子シミュレーション解析によると、リセプタとそのアダプタ蛋白質が刺激前にあらかじめクラスター領域内に存在すると仮定すると、クラスタリングのない場合に比べリガンド刺激後の複合体の生成量が向上することが見出された[4]。このことはシグナル伝達の効率の向上に静止細胞におけるクラスタリングプロセスが寄与していることを示していると考えられる。

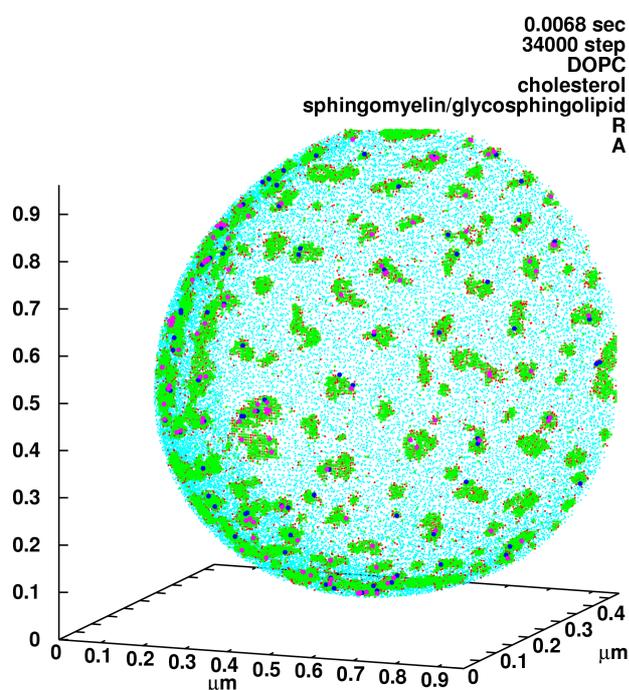


図 1 細胞膜表面における分子間相互作用についての粒子シミュレーションで得られたスナップショット。

クラスタリング、すなわちラフト形成のメカニズムについても粒子シミュレーションによって詳細な解析を進めている[5,6]。図1は細胞を模した曲面上に、主要な構成成分として、*dioloylphosphatidylcholine* (DOPC、不飽和脂肪酸、以下 U と表記)、コレステロール (C)、スフィンゴミエリン (飽和脂肪酸、S と表記)、リセプタ (R)、アダプタ蛋白質 (A) の 5 種類の分子を想定したシミュレーションを行ったときのスナップショットを示している。これら 5 種類の分子についてそれぞれ表1に示す初期濃度と拡散定数 (細胞外液中の値) の条件を与え、これらの中に表2に示す分子間相互作用 (複合体の結合と解離の活性化エネルギー) を考慮する。まず、不飽和脂肪酸とそれ以外の成分の間に比較的強い斥力を仮定する (表2 (a), (b))。また、比較的弱いカップリングを SC、SCS、SCT、および SCL 複合体に仮定する (表2(c), (d))。これらの3元複合体に関する相互作用は隣接した S、T ならびに L の間にコレステロールが介在することによりエネルギー的に有利に働くことを考慮している。さらに、これらより高い親和性を TL 複合体について仮定する (表2(e))。これらの条件をもとにシミュレーションを行った結果、コレステロールリッチなドメインとこれにリクルートされた膜蛋白質の振る舞いを得ることができた。

このように、細胞膜におけるクラスタリングメカニズムを相互作用レベルで検討することが可能になり、粒子シミュレーションを今後様々な細胞内プロセスに対して応用可能であることが示唆されている。

Reference

- [1] Woolf, P.J., and Linderman, J.J. (2003) Self organization of membrane proteins via dimerization, *Biophys. Chem.* 104: 217-227.
- [2] Nudelman, G. and London, Y. (2006) Cell surface dynamics: the balance between diffusion, aggregation and endocytosis, *IEE Proc.-Syst. Biol.* 153: 34-42.
- [3] Brinkerhoff, C.J., Woolf, P.J., and Linderman, J.J. (2004) Monte Carlo simulations of receptor dynamics: insights into cell signaling, *J. Mol. Biosol.* 35: 667-677.
- [4] Hiroshi Kobayashi, Ryuzo Azuma, and Akihiko Konagaya, (2007) *Signal Transduction, Receptors Mediators and Genes*, in press.
- [5] Azuma R, Kitagawa T, Kobayashi H, and Konagaya A (2006) in *Proc of first international multi-symposium on computer and computational sciences (IMSCCS/06)*, pp. 150-157. Ryuzo Azuma, Tetsuji Kitagawa, Hiroshi Kobayashi, and Akihiko Konagaya (2006) *BMC Bioinformatics*, 7 (Suppl 4), S20.
- [6] Ryuzo Azuma, Hiroshi Kobayashi, Tomoyuki Yamamoto, Tetsuji Kitagawa, and Akihiko Konagaya (2007) *IPSJ Transactions on Mathematical modeling and its Applications*, 49, SIG7 (TOM18), in press.

表1 細胞膜表面のクラスター形成シミュレーションで用いた基本5成分(複合体を除く)の拡散定数と初期濃度。

| 成分 (略記号) | 拡散定数 D [$\mu\text{m}^2/\text{sec}$] | 初期濃度 [μM] |
|--------------|--|---------------------------|
| DOPC (U) | 1.0×10^2 | 3.5×10^3 |
| スフィンゴミエリン(S) | 1.0×10^2 | 2.0×10^3 |
| コレステロール(C) | 1.0×10^2 | 2.0×10^3 |
| TCR (T) | 1.0×10^1 | 1.0×10^1 |
| LAT (L) | 1.0×10^1 | 1.0×10^1 |

表2 主な反応式と活性化エネルギーパラメタ値。 $\Delta E1$ 、 $\Delta E2$ はそれぞれ反応式の矢印右方向と左方向の活性化エネルギー。U, S, C, T, L は表1参照。

| | 反応式 | $\Delta E1$ [RT] | $\Delta E2$ [RT] | $\Delta E1 - \Delta E2$ [RT] |
|-----|---|------------------|------------------|------------------------------|
| (a) | U+S \rightleftharpoons US U+C \rightleftharpoons UC | 5.91 | 0.00 | 5.91 |
| (b) | U+T \rightleftharpoons UT U+L \rightleftharpoons UL | 8.21 | 0.00 | 8.21 |
| (c) | S+C \rightleftharpoons SC | 1.12 | 1.50 | -0.38 |
| (d) | SC+S \rightleftharpoons SCS SC+T \rightleftharpoons SCT SC+L \rightleftharpoons SCL | 1.12 | 4.40 | -3.28 |
| (e) | T+L \rightleftharpoons TL | 1.12 | 9.68 | -8.56 |