

# 生体分子間相互作用と局在に関する空間シミュレーションモデル

我 妻 竜 三<sup>†</sup> 小 林 弘<sup>††</sup>  
山 本 知 幸<sup>†††</sup> 小 長 谷 明 彦<sup>†</sup>

分子イメージング技術の進歩によって細胞内における時空間の分子運動を視覚化することができるようになった。しかしながら、観察された分子レベルの運動がどのようなメカニズムの帰結として生じているのかについての説明はこれまでのところ推測の域を出ていないようである。我々は細胞における分子運動、相互作用、局在、などの理論解析のための、三次元空間内における粒子の反応拡散シミュレーションアルゴリズムを提案する。細胞表面における分子間相互作用のシミュレーションを行うことにより、クラスタリングドメイン（約  $0.2 \mu\text{m}$ ）の生成を見い出した。このドメインを構成する分子の軌跡は「ホップ拡散」を再現する。これらの結果は、局在を理論的に解析するために、我々のアプローチが有望であることを示している。

## Simulation Model for Interactions and Localization of Biological Molecules

RYUZO AZUMA,<sup>†</sup> HIROSHI KOBAYASHI,<sup>††</sup> TOMOYUKI YAMAMOTO<sup>†††</sup>  
and AKIHIKO KONAGAYA<sup>†</sup>

Spatio-temporal dynamics within cells can now be visualized at appropriate resolution, due to the advances in molecular imaging technologies. However, little is known concerning how molecular-level dynamics affect properties at the cellular level. We propose an algorithm designed for three-dimensional simulation of the reaction-diffusion dynamics of molecules, based on a particle model. Snapshot images taken from simulated molecular interactions on the cell-surface revealed clustering domains (size  $\sim 0.2 \mu\text{m}$ ) associated with rafts. Sample trajectories of raft constructs exhibited “hop diffusion”. These domains corralled the diffusive motion of membrane proteins. These findings demonstrate that our approach is promising for modelling the localization properties of biological phenomena.

### 1. はじめに

生体分子運動と相互作用についてのシミュレーションを行うための粒子モデルに基づく一般的な方法を提案する。現在、細胞以下レベルの局在の解析は、興味ある細胞の性質がどのように制御されるかを知るために重要となっている。実験技術の進歩とともに、これらの性質の解析が進められている。たとえば、単一粒子トラッキング (SPT) と単一フルオロフォアビデオイメージ (SFVI) の技術によって、個々の分子が時間空間で実際にどのように運動し、相互作用する

かに関する観測を可能にした。SPT と SFVI は、形質膜における受容体の運動<sup>1),2)</sup> と核内の mRNA の運動<sup>3)-5)</sup> の解析に利用されている。またこれらの技術は、微小ドメイン構造のサイズの測定を可能にした<sup>6),7)</sup>。SPT/SFVI 研究に関するこれらの実験研究のように定量的なデータを与える例も出てきたが、まだ多くの実験は目的とした物質が得られたか否か判断するために定性的データを用いている。もう 1 つ注意すべき点は、これらの実験における長さやタイムスケールは典型的なマイクロならびにマクロなシミュレーション（すなわち、分子動力学と速度論方程式シミュレーション）で解析可能なスケールのほぼ中間にあることである。したがって、我々の目的はこのスケールでの実験データを統合して、理論解析を行うことを可能とするシミュレーションツールを提供することである。我々のシミュレーションモデルにおいては 3 次元空間内の分子のブラウン運動を考慮する。この空間内での分子間相互作用により複合体が生み出される。複合体

<sup>†</sup> 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター  
RIKEN Genomic Sciences Center

<sup>††</sup> 千葉大学大学院薬学研究院  
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

<sup>†††</sup> 北陸先端科学技術大学院大学知識科学研究科  
School of Knowledge Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology

の結合、解離ならびに基質から生成物への変化はエネルギー状態の変化を考慮し、モンテカルロアルゴリズムに基づいたある確率で受け入れられる。ブラウン運動ならびに分子間相互作用の基本ダイナミクスは分子レベルのモデルであるが、反応確率と反応速度論定数の関係を明らかにし、シンプルな系（酵素反応モデル）のシミュレーションにおいては、アンサンブル平均の時間変化が速度論方程式理論により導かれる予測を正しく再現することを確認した。したがって、我々のモデルは以下の特徴を持つ。

- (1) 溶液系を対象とした反応拡散シミュレーションモデルである。
- (2) 相互作用について活性化エネルギーの変化を考慮している。
- (3) 粒子をすべて区別して扱う。
- (4) 粒子の大きさ（排除体積）を考慮している。
- (5) 時間発展を考慮したモデルである。

このシミュレーションモデルを使用することによって、我々は「ラフト」<sup>8)</sup>と呼ばれるコレステロールリッチな界面活性剤耐性膜（Detergent Resistant Membrane, DRM）と関連した細胞膜上のクラスタリングドメインの生成を示すことに成功した。さらに、(1)ドメインを構成する分子の軌跡は「ホップ拡散」<sup>9)</sup>と関連した特有の拡散を示す、(2)ラフト親和性のタンパク質がクラスタリングドメインに入ることによりタンパク質複合体生成が促進される、(3)クラスタリングドメインからのタンパク質複合体の跳避速度は複合体状態にない分子のものより少ないように見える、(4)このことにより、膜タンパクは、ほぼこれらのドメイン内に囲われた状態にあり、逆にクラスタリングドメインを安定させるように見える。

本論文の構成は以下のとおりである。2章でシミュレーションモデルとアルゴリズムについて説明を行い、時間と長さスケールの変換則、確率論定数と速度論定数の関係性について考察を行う。さらにモデルの特徴について従来のモデルとの比較を行う。3章ではまずシミュレーションアルゴリズムの妥当性チェックとして酵素反応モデルについて行ったシミュレーション結果と微分方程式の数値解との比較を行う。次に細胞膜表面におけるクラスタ形成のシミュレーション結果を示す。最後に4章で結論を述べる。

## 2. モデルと方法

本章で述べるアルゴリズムは粒子のランダムウォーク、結合ならびに解離、反応の4つの部分により構成される。

### 2.1 ランダムウォーク

この過程において、各粒子は立方格子に沿って移動する。このとき、最隣接格子点6つのうちの1つに等しい確率で到達するようなランダムステップをとる。このステップは長さ  $l$  である。したがって、それぞれの後の粒子位置は値  $(n_{xl}, n_{yl}, n_{zl})$  ( $n_x, n_y$ , および  $n_z$  は整数である)のみをとりうる。この過程で粒子は単位時間 ( $\tau$ ) あたり確率  $d$  でステップする。つまり、この粒子は各格子点で可変の待ち時間を与えられている。マスタ方程式理論により、 $l \rightarrow 0$  の極限でこのタイプのランダムウォークは、以下の拡散係数を持つ時間に依存したガウス分布を持つ Wiener 過程であることを示すことができる<sup>10)</sup>：

$$D = \lim_{l \rightarrow 0} l^2 d \quad (1)$$

ここで最大の拡散速度を与えるのは  $d = 1/6[\tau^{-1}]$  の場合であり、これは粒子がかならずステップすることを意味する。

### 2.2 結合プロセス

化学種 S の粒子が上で説明した移動に関する試行によって T 種の別の粒子の相互作用範囲にちょうど入り、なおかつこれらの粒子が互いに結合することが可能であると仮定しよう。この過程で粒子が ST 複合体を形成することができるかどうか決定される。まず、事前に定義されたテーブル内の複合体候補リストから現在対象となっている組合せ（ここでは ST のペア）を探す。図1は二元複合体のケースの典型的な例を示す。簡単のために、特定の平面に投影した運動のみを考える。ここで、S, T, および U は粒子の化学種を示す。一点破線の円によって囲まれた領域は粒子 S の相互作用範囲（半径  $\sqrt{3}$  の球と定義する）を示す。この場合、結合プロセスは以下に述べる一連のステップからなる。

(1) 粒子 S はポインタによって示されるように上方に動く。これによって、別の粒子 T が相互作用範囲に入る。ここで、これらの粒子に付けられたシンボル  $\phi$  は、空の変数を示し、拘束された粒子がないことを示す。この変数は以下、結合変数と呼ぶことにする（図1A）。

(2) S 粒子について事前に定義されたテーブルを参照することによって、S 粒子が T 粒子と結合可能であることのチェックを行う。より正確には、図1Bで S-T として表されているように、このテーブルに単一の S 粒子と単一の T 粒子の組合せがあれば、S-粒子は T-粒子と結合することができる（図1B）。

(3) 一様乱数  $\xi$  ( $0 \leq \xi < 1$ ) を生成し確率

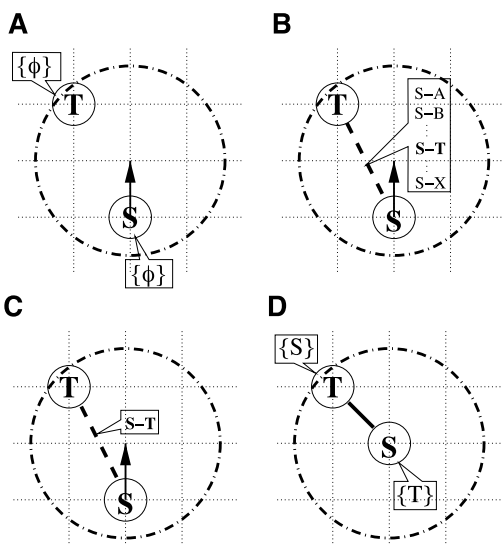


図 1 結合プロセス。(A) ランダムウォークにより S は矢印の向きに進もうとする。ここで、S と T の結合変数は空になっている (シンボル  $\phi$ )。 (B) 移動の前に、複合体の候補リストのテーブルを探索し、S と T の結合が定義されているかのチェックを行う。 (C) このテーブルが単一の S および単一の T のコンビネーション (ST) を持っている場合、一様乱数  $\xi$  ( $0 \leq \xi < 1$ ) と遷移確率  $p_1$  の比較を行う。 (D)  $\xi < p_1$  であれば、この移動はアクセプトされる。

Fig. 1 The binding process. (A) The motion of S is upward. Here  $\{\phi\}$  stands for no binding. (B) Capability of S-T complex formation is checked. (C) Compare a uniform random number  $\xi$  ( $0 \leq \xi < 1$ ) and the transition probability  $p_1$ . (D) If  $\xi < p_1$ , the upward motion of S is accepted.

$P(ST|S+T) = p_1^0 \exp(-\Delta E_{1b}/RT) = p_1$  と比較を行う (図 1C)。ここで、 $\Delta E_{1b}/RT$  は無次元の活性化エネルギー ( $R, T$  はそれぞれ、気体定数、絶対温度)。  $p_1^0$  は  $\Delta E_{1b} = 0$  での  $p_1$  を与え、各試行間の時間間隔をコントロールする因子であるが、実効活性化エネルギー  $\Delta E_1 = E_{1b} - RT \ln p_1^0$  を導入することによって  $p_1 = \exp(-\Delta E_1/RT)$  と表すことができる。  $\xi < p_1$  であれば、粒子 S の矢印の方向の運動をアクセプトする。逆に  $\xi \geq p_1$  であるときには、リジェクトする。ここでは、ST 複合体の生成速度が条件付き確率  $p_1$  であることを仮定している。

(4) 移動をアクセプトする場合、T を粒子 S の結合変数に割り当てる。逆の場合もまた同様である (図 1D)。

ここで指摘しておくべき点として、 $p_1 = 0$  の極限を考えた場合、S と T は恒久的に互いの相互作用半径に入ることができない。すなわち、このモデルは排除体積を考慮することができる。

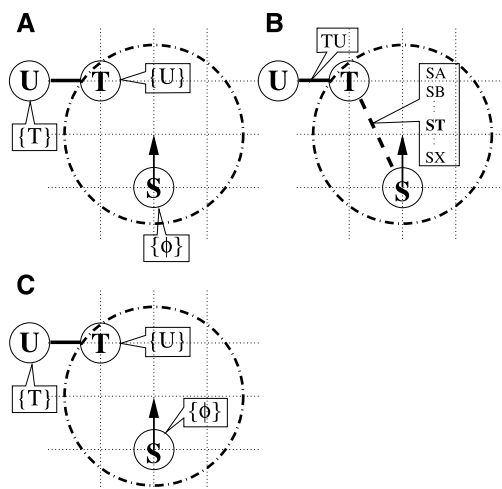


図 2 結合をともなわない相互作用例。(A) U は、すでに、T と U の結合により T の結合変数を占有している。(B) 候補リストの中の TS を探索するプロセス。(C) 粒子 T の結合変数を参照すると U がある。したがって ST 複合体の生成は排除される。

Fig. 2 An interaction without binding. (A) Here T already binds U. (B) Then S-T complex formation is not capable. (C) Hence the process corresponding to Fig. 1 (C) cannot arise.

### 2.3 化学量論の保存のためのチェック機構

相互作用範囲の中のすべての組の S と T 粒子が必ずしも互いに結合することができるというわけではない。図 2 は結合プロセスにともなう例外的な場合を示している。分子 T は、すでに U 分子に結合し、したがって、分子 S と結合することができない。このような場合、これらの粒子は以下に述べる一連のステップの手続きによって処理される。

(1) 移動トライアルにより粒子 S が上方向に移動しようとする。その結果、粒子 T が相互作用範囲に入る (図 2A)。

(2) 事前に定義されたテーブルを参照することによって、分子 S が分子 T と結合可能であることが分かる (図 2B)。

(3) 分子 T の中の結合変数をチェックすると U があることが分かる。したがって S を T の結合変数に割り当てることができない。同様に粒子 S の結合変数に T の割り当ても妨げられる (図 2C)。

### 2.4 解離プロセス

この過程では、粒子 T と S の結合変数にそれぞれ割り当てられた S と T は、解離のアクセプトと同時にクリアされる。

(1) 一様乱数  $\xi$  ( $0 \leq \xi < 1$ ) を生成し、確率  $P(S+T|ST) = p_2^0 \exp(-\Delta E_{2b}/RT) =$

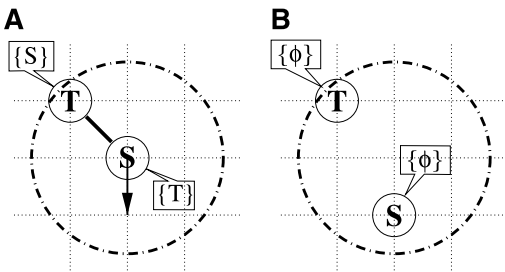


図3 解離プロセス．粒子 S は、ランダムウォーク試行によって矢印の方向へ進もうとする．TS 複合体 (A) は S と T 粒子に分裂する (B)．

Fig.3 The unbinding process. (A) S moves downward. (B) If  $\xi < p_2$  ( $0 \leq \xi < 1$ ), this motion is accepted.

$\exp(-\Delta E_2/RT) = p_2$  との比較を行う．ここで、 $p_2^0$  は  $\Delta E_{2b} = 0$  での解離確率、 $\Delta E_{2b}/RT$  は無次元の活性化エネルギー、また、 $\Delta E_2 = \Delta E_{2b} - RT \ln p_2^0$ ． $\xi < p_2$  であるときに、粒子 S の移動をアクセプトし、逆に  $\xi \geq p_2$  であるときリジェクトする (図 3A)．つまり、 $S + T \rightarrow ST$  の反応速度は  $\Delta E_2/RT$  の指数関数として書くことができると仮定する<sup>11)</sup>．

(2) 移動をアクセプトする場合、粒子 S の結合変数における T をクリアする、逆もまた同様となる (図 3B)．

## 2.5 反応プロセス

この過程で、各粒子は化学種が異なったものに入れ換えられる試行を受ける．手順のステップは以下のとおりである．

(1) 一様乱数  $\xi$  ( $0 \leq \xi < 1$ ) を生成し確率  $P(VT | ST) = p_3^0 \exp(-\Delta E_{3b}/RT) = \exp(-\Delta E_3/RT) = p_3$  と比較を行う．ここで、 $p_3^0$  は  $\Delta E_{3b} = 0$  での反応確率、 $\Delta E_{3b}/RT$  は無次元の活性化エネルギー、また、 $\Delta E_3 = \Delta E_{3b} - RT \ln p_3^0$ ． $\xi < p_3$  であるときに、粒子 S の V への変更をアクセプトし  $\xi \geq p_3$  であるときにリジェクトを行う (図 4A)．

(2) この変更がアクセプトされれば ST から VT へ変換を行う (図 4B)．

## 2.6 時間と長さスケール

シミュレーションの単位時間 ( $\tau$ ) は、あらゆる粒子が 1 度だけ移動の試行を受けた 1 サイクルと定義する．同様に、反応プロセスの試行もすべての粒子について単位時間あたり 1 度だけ実行される．次に、これら単位時間と単位長さ (実時間 (sec)、長さ単位 ( $\mu\text{m}$ )) の間の関係づけを行う．具体的には、スケール変換を以下のように行う．(a) 比較的小さな体積の中での比較的速いダイナミクスに興味を持っているとき、 $1 \text{ sec} = 5 \times 10^5 \tau$  ならびに、 $1 \mu\text{m} = 181.9l$  とする．

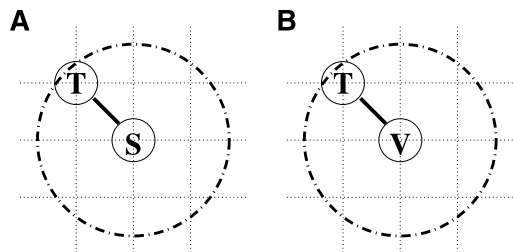


図4 化学反応プロセス．TS 複合体 (A) は TV に変換される (B)．

Fig.4 The modification process. Likewise, the modification of S to V is accepted when  $\xi > p_3$ . Here  $0 \leq \xi < 1$ .

表 1 確率論定数と速度論定数の間の関係

Table 1 Relations between probability constants and kinetic coefficients. D: diffusion coefficient.  $k_1$ ,  $k_{-1}$ , and  $k_2$ : binding, unbinding, and modification kinetic coefficients.

	(a)	(b)
1 sec	$5 \times 10^5 \tau$	$5 \times 10^3 \tau$
$1 \mu\text{m}$	$181.9l$	$18.19l$
$D [\mu^2 \text{ m/sec}]$	2.519	2.519
$k_1 [\text{nM}^{-1} \text{ sec}^{-1}]$	$0.2096p_1$	$2.096p_1$
$k_{-1} [\text{sec}^{-1}]$	$2.778 \times 10^4 p_2$	$2.778 \times 10^2 p_2$
$k_2 [\text{sec}^{-1}]$	$5 \times 10^5 p_3$	$5 \times 10^3 p_3$

スケール変換 (a) と (b)、ならびに、速度論係数と確率論定数の間の関係．

(b) 逆に、比較的大きい容積中での比較的長時間にわたる反応の振舞いを調べるときには、 $1 \text{ sec} = 5 \times 10^3 \tau$  ならびに、 $1 \mu\text{m} = 18.19l$  とする (表 1)．

これらの 2 つの組合せのスケール変換は、 $d = 1/6 [\tau^{-1}]$  つまり、最も速い拡散であるときに、双方が実単位系で  $D = 2.519 [\mu\text{m}^2/\text{sec}]$  を与えるように選択されている．これは以下の計算で容易にチェックすることができる．拡散係数を式 (1) により  $D = l^2 d [\tau^{-1}]$  と近似するので、(a) と (b) 双方のパラメータの組合せ ( $l, d$ ) = ( $5.498 \times 10^{-3} [\mu\text{m}], 5 \times 10^5/6 [\text{sec}^{-1}]$ ) ならびに ( $5.498 \times 10^{-2} [\mu\text{m}], 5 \times 10^3/6 [\text{sec}^{-1}]$ ) は等しく  $D = 2.519 [\mu\text{m}^2/\text{sec}]$  を与える．この値は、細胞質中の球状タンパク質について測定された実験値に近い<sup>12)</sup>．

## 2.7 速度論係数

表 1 に、(a) および (b) について理論的に導いた確率論定数および速度論係数の関係性をまとめた．ここで、 $k_1$ ,  $k_{-1}$  および  $k_2$  は、反応  $S + T \rightarrow ST$ ,  $ST \rightarrow S + T$  および  $ST \rightarrow VT$  についての速度論係数をそれぞれ示す．これらの関係性の意味を簡単に考察してみる．まず、 $k_1$  については (b) に比べて (a) のほうが小さくなっている．これは (b) に比べて (a)

のほうが空間刻みが小さくなり反応半径 ( $\rho$ ) が小さくなった ( $\rho \simeq l$  を仮定すれば, 前者は  $\rho \simeq 55 \text{ nm}$ , 後者は  $\rho \simeq 5.5 \text{ nm}$ ) ため相互作用の頻度が低下したことに起因する. 次に,  $k_{-1}$  と  $k_2$  は (b) に比べて (a) が時間刻み数に比例して増大していることが分かる. これは 1 sec あたりに行う  $k_{-1}$  と  $k_2$  の反応プロセス (解離と反応) の 1 sec あたりの試行回数が時間刻み数の増えた分だけ増大したためである. したがって, 時間刻み, すなわち  $\tau$  は最も速い反応でなおかつ反応確率が 1 のときの反応の時間間隔を表していると解釈することができる.

係数  $k_1$  は以下のようにして導かれる. 不可逆反応  $S + T \rightarrow ST$  において, 相互作用半径内に入った  $S$  と  $T$  は必ず  $ST$  になるとした場合, この過程の反応速度は溶液中における拡散律速反応速度理論から予言され,

$$v_a^0 = 4\pi\rho D' \{1 + \rho(\pi D' t)^{-1/2}\} [S][T] \quad (2)$$

と書かれる<sup>13),14)</sup>. ここで  $D' = D_S + D_T$  ( $D_S, D_T$  はそれぞれ  $S, T$  の拡散定数).  $\rho$  は反応半径である. これに対して結合の活性化エネルギー, すなわち, 結合確率を考慮したモデルでは, 式 (2) に  $p_1$  を掛けた速度

$$v_a = v_a^0 p_1 = 4\pi p_1 \rho D' \{1 + \rho(\pi D' t)^{-1/2}\} [S][T] \quad (3)$$

によって反応が進む. 通常的时间範囲では  $\rho(\pi D' t)^{-1/2} = 0$  と見なすことが可能である. したがって,

$$v_1 = v_a |_{t \rightarrow \infty} = 4\pi p_1 \rho D' [S][T] \quad (4)$$

を用いる. さらに,  $D_S = D_T = D$  を仮定し, また式 (1) より

$$v_1 = 8\pi p_1 \rho l^2 d [S][T] \quad (5)$$

したがって, 速度論係数

$$k_1 = 8\pi p_1 \rho l^2 d \quad (6)$$

が導かれる. 実際には  $\rho \simeq l$  の近似により,  $k_1 = 8\pi p_1 l^3 d [\tau^{-1}]$  を用いた. これに表中の 1, 2 行目にあるスケール変換則を適用すると 4 行目の  $k_1$  の形が得られる.

$k_{-1}$  についての関係式内のファクタ  $1/3$  は,  $T$  を固定して考えたときに,  $S$  のあらゆる結合配位のうち解離をとまなう移動の総数が,  $S$  のあらゆる結合配位について解離するか否かに関係なく数えた移動の総数の 3 分の 1 であることを示している. つまり

$$\alpha = \sum_{x_s} \theta(\rho + \epsilon - \|x_s - x_T\|)$$

表 2 確率論定数と速度論定数の間の関係: 一般的な関係式  
Table 2 Relationships between probability constants and kinetic coefficients: general forms  $\Delta E1_b$ ,  $\Delta E2_b$ , and  $\Delta E3_b$ : bare activation energies for binding, unbinding, and modification.

1 sec	$\varphi\tau$
1 $\mu\text{m}$	$\lambda l$
$D [\mu^2 \text{m}/\text{sec}]$	$\varphi d/\lambda^2$
$k_1 [\text{nM}^{-1} \text{sec}^{-1}]$	$4.818\pi d \varphi p_1^0 \exp(-\Delta E1_b/RT)/\lambda^3$ $= 4.818\pi d \varphi \exp(-\Delta E1/RT)/\lambda^3$
$k_{-1} [\text{sec}^{-1}]$	$\alpha d \varphi p_2^0 \exp(-\Delta E2_b/RT)$ $= \alpha d \varphi \exp(-\Delta E2/RT)$
$k_2 [\text{sec}^{-1}]$	$\varphi p_3^0 \exp(-\Delta E3_b/RT)$ $= \varphi \exp(-\Delta E3/RT)$

$$\times \sum_{\Delta x_s} \theta(\|x_s + \Delta x_s - x_T\| - \rho) / \sum_{x_s} \sum_{\Delta x_s} \theta(\rho + \epsilon - \|x_s - x_T\|) \quad (7)$$

のファクタの寄与分を考慮している. ここで  $\theta(x)$  は  $x > 0$  で 1,  $x \leq 0$  で 0 の値をとる関数であり,  $\epsilon$  は 0 より大きい小さな数,  $x_s$  と  $x_T$  はそれぞれ  $s$  と  $T$  の位置,  $\Delta x_s$  は 1 ステップの  $s$  の移動分を表す. いま  $x_T$  を固定しているので  $x_T = 0$  としてよい. また,  $\rho = \sqrt{3}$  であるので,  $x_s$  は  $x_T = 0$  を中心として 1 辺あたり 3 つの格子点を持つ立方体中の点のうちのいずれかにある. したがって, これらの点における移動の総数を計算すると  $33 \times 6 = 162$  通りである. 一方, これらのうち, 解離, つまり,  $x_T = 0$  から  $\rho = \sqrt{3}$  以上離れるものについて考えると, まず, 立方体の 8 つの頂点については 3 つの移動方向が存在する. 次に 12 の辺の midpoint については 2 つの方向がある. 最後に 6 つの面の midpoint に関しては 1 つの向きがある. したがって, 解離をとまなう移動の総数は  $8 \times 3 + 12 \times 2 + 6 = 54$  になる. したがって,  $\alpha = 54/162 = 1/3$  が導かれる.

以上のことを一般的な形で再びまとめ直すと表 2 のようになることが示される. ここで  $\varphi$  は 1 sec あたりの時間刻みの数,  $\lambda$  は  $1 \mu\text{m}$  あたりの空間刻みの数であり, 4 行目の  $k_1$  の式中のファクタ 0.602 は濃度単位  $\text{nM}$  に変換を行う際に現れる係数である. 表 1 中では  $k_{-1}$  および  $k_2$  が時間刻み数  $\varphi$  に依存しているように表示されているが, 表 2 で示されているように, 実際には時間  $\tau$  あたりの速度  $p_2^0$  ならびに  $p_3^0$  が掛け算される.

## 2.8 モデルの特徴

1 章で述べた我々のシミュレーションモデルの 5 つの特徴, すなわち, (1) 溶液系を対象とした反応拡散シミュレーションモデルである, (2) 相互作用について活性化エネルギーの変化を考慮している, (3) 粒子

表 3 各シミュレーションモデルの特徴

Table 3 Comparison of the proposed simulation method and previous ones.

モデル	溶液系	エネルギー	粒子を区別	排除体積	時間発展
(a)	△	△	×	×	○
(b)	×	○	○	○	×
提案モデル	○	○	○	○	○

モデル (a) Gillespie 型反応拡散モデル, (b) Mouritsen らのインポータンスサンプリングモンテカルロ. (○) 適用可能, (△) 適用できない場合あり, (×) 適用はほぼできない.

をすべて区別して扱う, (4) 粒子の大きさ (排除体積) を考慮する, (5) 時間発展を考慮したモデルである, は細胞を対象としたシミュレーション, 特に, 細胞膜表面における分子間相互作用や局在を調べるうえでなくてはならない要件である. つまり, (1) や (2) は生体分子の運動と相互作用を表現するうえで重要であるうえ, (3) と (5) は最近の分子計測実験との比較を行ううえで欠かすことはできない. したがって, このようなシミュレーションを行う場合どのモデルを採用するのが最適であるかは重要なステップである. 従来のモデルは (a) 部分空間を利用した確率的反応拡散シミュレーションモデル<sup>15),16)</sup>, それから (b) Pink のモデル<sup>17)-19)</sup> に対するモンテカルロシミュレーション<sup>20)-23)</sup> の 2 種類に大別することができる.

表 3 に示すようにこれらのモデルは必ずしも上記のすべての要件に対応可能であるとはいえない. まず, (a) は Gillespie のモデル<sup>24),25)</sup> を拡張したモデルである. 各部分空間内での確率的な反応と隣接する部分空間との粒子のやりとりを考慮する. ここでは各部分空間内ですべての成分がよく攪拌されていることが前提とされる. このため, 気体分子や溶液中のカルシウムイオンのように拡散の速い分子の反応拡散系を対象とするには適している. しかしながら, 部分空間のサイズ (1 辺  $1 \mu\text{m}$  の立方体が用いられている<sup>15)</sup>) 以下の詳細に関しては表現することができない. このことは, 分子の大きさを考慮に入れなくてはならないケース, たとえば, 分子間の斥力が顕著になり, 排除体積を考慮しなくてはならない場合, つまり細胞膜表面における協力現象のようなケースを (a) により再現することは困難であることを示唆している. また, (a) は粒子の個数の時間変化を対象としたモデルであるため個々の粒子の軌跡を得ることができない.

次に (b) は細胞膜上における脂肪酸などの細胞膜構成分子の形状変化と相互作用についてエネルギーを考慮した遷移確率として表現しモンテカルロシミュレーションを行う. これによって脂肪酸 (主に DPPC) どの相互作用やコレステロール添加による協力現象を再現することができた. (b) ではしかしながら, 基

本的な問題点として脂質分子の拡散を考慮していない (コレステロールに関しては Kawasaki のダイナミクスによって移動を考慮している). このため, 時間発展については議論の対象とせず, クラスタサイズの温度やコレステロール添加量依存性などをインポータンスサンプリング・モンテカルロを用いて解析を行っている<sup>20)-23)</sup>.

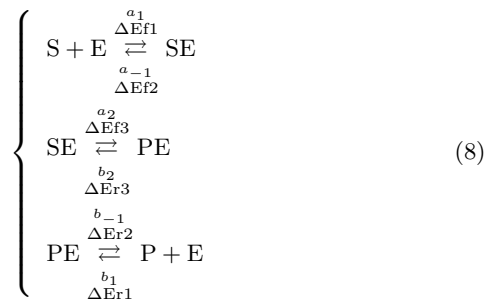
### 3. 結 果

#### 3.1 結合した 2 分子の運動

上記のアルゴリズムとその実装が設計されたように正しく働くか否かのチェックを行うため, 単純な 2 分子反応  $S + E \rightarrow SE$  のシミュレーションを行い, 粒子の軌跡の表示を行った. 図 5 のように  $p_2 = 0$  (すなわち, 恒久的な結合) であるので, 分子 S と E は空間内で絶えず動き回る一方でつねに互いに拘束しあっている.

#### 3.2 可逆酵素反応

上記の結合, 解離, および化学反応の各プロセスについて, 多数の粒子系において理論上の要件を満たすかどうかの定量的な検討を行うために, 以下の可逆酵素反応について一連のシミュレーション解析を行った:



ここで, 各反応における変数 (たとえば,  $S + E \rightarrow SE$  反応における  $a_1$  と  $\Delta E f_1$ ) は速度論係数と無次元の活性化エネルギーの組合せを示す. 我々のモンテカルロシミュレーションにおいては, 各格子点ごとに  $[S]_0$  の割合で粒子をランダムに配置した初期分布から開始して, 16 サンプルに関する平均値の時間発展の評価を行った. 図 6 に, 表 4 (a) および表 4 (b) に示した

表 4 可逆酵素反応モデル (式 (8)) のパラメータ値  
Table 4 Parameter values used in the simulations of model Eq. (8).

活性化エネルギー [RT]	(a) 図 6 A	(b) 図 6 B	測度論係数	(c) 図 6 A	(d) 図 6 B
$\Delta Ef1$	0.1	1.7	$a_1$ [nM <sup>-1</sup> sec <sup>-1</sup> ]	$1.90 \times 10^{-1}$	$3.83 \times 10^{-2}$
$\Delta Er1$	0.1	1.7	$b_1$ [nM <sup>-1</sup> sec <sup>-1</sup> ]	$1.90 \times 10^{-1}$	$3.83 \times 10^{-2}$
$\Delta Ef2$	2.3	3.9	$a_{-1}$ [sec <sup>-1</sup> ]	$2.79 \times 10^3$	$5.62 \times 10^2$
$\Delta Er2$	4.6	4.6	$b_{-1}$ [sec <sup>-1</sup> ]	$2.79 \times 10^2$	$2.79 \times 10^2$
$\Delta Ef3$	10.8	10.8	$a_2$ [sec <sup>-1</sup> ]	$1.02 \times 10^1$	$1.02 \times 10^1$
$\Delta Er3$	12.4	10.8	$b_2$ [sec <sup>-1</sup> ]	2.06	$1.02 \times 10^1$
$\Delta G$	0.7	0.7	$K_{eq}$	$5.00 \times 10^{-1}$	$5.00 \times 10^{-1}$

活性化エネルギーの速度論係数への変換は表 1 (a) に基づいて行った .  $K_{eq} = a_1 a_2 b_{-1} / a_{-1} b_2 b_1$

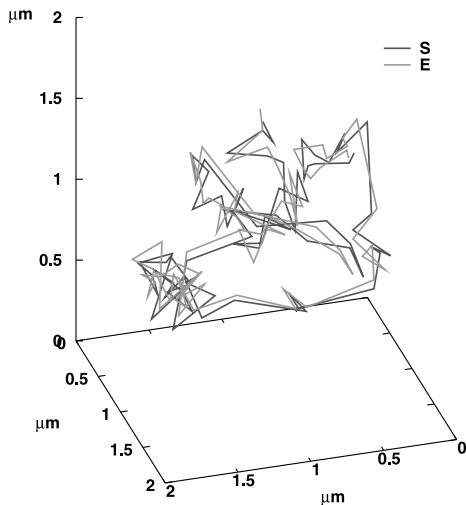


図 5 S + E → SE のシミュレーション . 粒子 S および E は  $p_2 = 0$  で互いに結合している . これらの軌跡を  $t = 0$  から  $1.6 \times 10^4 \tau$  まで  $1.6 \times 10^2 \tau$  おきにプロット . 長さ単位は  $1 \mu\text{m}$  , 表 1 (b) のスケール変換に基づく .

Fig. 5 Trajectories of S and E particles from an S + E → SE simulation.

2 セットの活性化エネルギーについて , [P] の平均値の時間発展を様々な初期濃度  $[S]_0$  に対してプロットした結果を示す . 図 6 A および B 中のシンボルがそれぞれ表 4 (a) および (b) のパラメータを用いて計算された結果である . この結果 , 比率  $[P]/[S]$  の定常値は  $\exp(-\Delta G/RT)$  と一致することが確認できる (ここで  $\Delta G = \Delta Ef1 - \Delta Er1 - \Delta Ef2 + \Delta Er2 + \Delta Ef3 - \Delta Er3 = 0.7RT$  ) . たとえば , 図 6 A と B 中のシンボル  $\nabla$  ( $[S]_0 = 10 \mu\text{M}$ ) の定常状態の値は双方ともに  $[P] = 8.20 \mu\text{M}$  を , シンボル  $\diamond$  ( $[S]_0 = 4 \mu\text{M}$ ) のそれはともに  $[P] = 3.27 \mu\text{M}$  を与える .

式 (8) と同じ反応について , 速度論式 (連立常微分方程式) を解くことによって得られた結果と比較を行った . この比較を行うため , 表 4 (a) および (b) 中の活性化エネルギーに表 1 (a) の中のスケール変換規則を適用し , これによって , 表 4 (c) および (d) 中の対応する速度論パラメータをそれぞれ得た . 速度論方程式

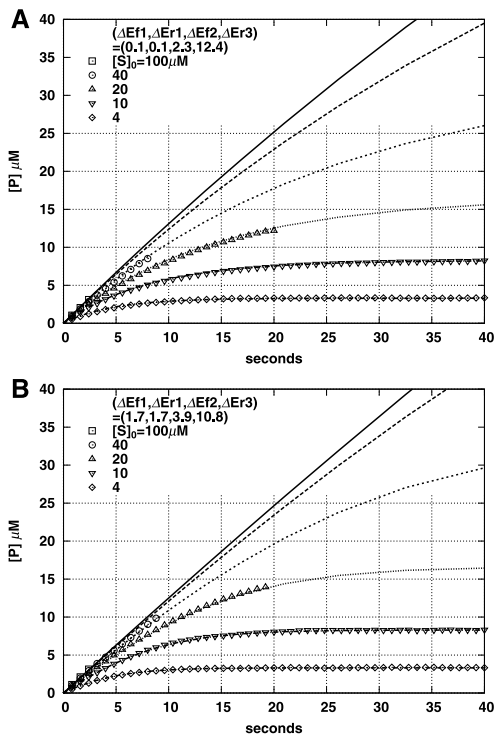


図 6 モンテカルロシミュレーションと連立常微分方程式の結果の比較 . モンテカルロ (粒子) シミュレーション (白抜きシンボル) の結果を [P] の平均値 , およびこれに対応した速度論方程式 (点線および実線) の数値解を時間 (秒) に対してプロットした . 活性化エネルギーおよびこれらに対応した速度論パラメータを表 4 に示す (A) 表 4 (a) および (c) のパラメータセットについての結果 . (B) 表 4 (b) および (d) のパラメータセットについての結果 . E の総濃度は  $[E]_0 = 0.1 \mu\text{M}$  . モンテカルロのデータは 16 サンプルの平均値 . 初期条件において , 3 次元空間内のすべての格子点に等しい確率で粒子を配置 .

Fig. 6 Comparison of particle simulation and ordinary differential equations: time series data. Symbols: ensemble average of 16 samples from the particle simulation. Line curves: solutions from Eqs. (9) and (10). (A) Parameter sets in Table 4 (a). (B) Parameter sets in Table 4 (b).

の具体的な形を以下に示す .

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = a_1uv - a_{-1}x + b_2y - a_2x \\ \frac{dy}{dt} = a_2x - b_2y - b_{-1}y + b_1zv \\ \frac{dz}{dt} = b_{-1}y - b_1zv \end{cases} \quad (9)$$

ここで  $x, y, z$  はそれぞれ [SE], [PE], [P] を表し、以下の束縛条件を持つ。

$$\begin{cases} u = [S]_0 - x - y - z \\ v = [E]_0 - x - y \end{cases} \quad (10)$$

**3.3 2 次反応以上の高次のオーダの反応への拡張**  
 以上に述べたシミュレーションは、ただだか 2 つの異なる種類からなる複合体を持つ化学反応のみを含んでいる。しかしながら、シミュレーション方法の一般的な適用については、2 つを超える種類の多体の相互作用を含む、より高次のオーダの化学反応モデルに対応可能なアルゴリズムを実装しなくてはならない。これを可能とするため、各粒子の結合パートナーのインデックスおよび化学種をつねにモニタし、この情報を「結合配列」としてとっておくようにしたアルゴリズムの開発を行った。煩雑になるためアルゴリズムのその他の詳細については割愛するが、この拡張版アルゴリズムは 2.2~2.5 節で述べたものと基本的には同じ考え方で作られたものである。

**3.4 細胞膜上におけるクラスタ形成**

細胞膜上におけるクラスタ形成についてのシミュレーションは拡張アルゴリズムの有用性を最もよく示す応用例の 1 つである。このシミュレーションにおいて、細胞膜上のクラスタである「ラフト」の形成とこれともなう T 細胞受容体 TCR と LAT (膜貫通型アダプタ・タンパク質) の相互作用に対する影響の検討を行った。T 細胞受容体および LAT は細胞表面上のコレステロールリッチなマイクロドメイン (ラフト) に対する親和性がある。

コレステロールは主としてスフィンゴミエリンからなる形質膜の性質を変えることができるため、クラスタリングに対して非常に重要な効果がある。コレステロールを加えることによって固体 (SO) 相をとる形質膜が液体 (LO) 相へ移行することが示されている。このコレステロール付加の中間のレベルで、SO 相および LO 相は共存することができる。この共存相においては形質膜側方の異方性が生じており、コレステロールリッチドメインへコレステロールが分離した状態にある<sup>8)</sup>。形質膜外葉のクラスタリングに関して他の要因の影響もあるといわれている。たとえば、アルキル

鎖の長さおよび飽和がクラスタリングに寄与しているとの提案がなされている。つまり、長い飽和アルキル基の鎖を持つ、スフィンゴ糖脂質、スフィンゴミエリンおよびリン脂質は、コレステロールリッチドメインに入ってラフトを形成しうる<sup>26)~29)</sup>。これは隣り合う飽和アルキル鎖どうしの隙間に生じた空間にコレステロールが入りやすいこととも関係している<sup>29),36)</sup>。

これらの要因を考慮に入れ、クラスタ形成に関係する重要なコンポーネントおよびそれらの相互作用パラメータの組み込みを行った。不飽和脂肪酸としてジオレオイルフォスファチジルコリン (dioleoylphosphatidylcholine, DOPC, 以下 U と表記)、スフィンゴミエリン (S)、コレステロール (C)、膜タンパク質として T 細胞受容体 TCR (T) ならびに LAT アダプタタンパク質 (L) の 5 種類の分子についてそれぞれ表 5 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 6 に示す分子間相互作用を考慮した。ここでは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 6 (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 6 (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

表 5 細胞膜表面のクラスタ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

Table 5 Diffusion coefficients and total concentrations in the simulations of clustering in the cell surface.

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

表 6 主な反応式と活性化エネルギーパラメータ値。 $\Delta E1, \Delta E2$  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

Table 6 Activation energies for important interactions.  $\Delta E1$ : binding,  $\Delta E2$ : unbinding.

	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



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 6(e)).

このような相互作用条件ならびに十分な量の SC 複合体があるときに、安定したクラスタリングパターンが得られる (図 7A; 動画ファイル 30). 図 7A に示すように、S および C 成分は DRM (コレステロールリッチな界面活性剤耐性膜) ドメインないしラフト構造を示し、クラスタリング領域 (サイズ約  $0.1 \mu\text{m}$ ) を形成する. 図 7B および C にはそれぞれスフィンゴミエリンならびにコレステロールの局所的な濃度 ( $22^3 \text{nm}^3$  のマスごとの濃度) を高さ軸方向に表示した. クラスタサイズの成長がほぼ落ち着いた時点で動画を注意深く観察すると、ラフトの前駆体 (プレカーサーラフト)<sup>29)</sup> を想起させる直径約  $25 \text{nm}$  ほどのクラスタ ( $1 \sim 10 \text{msec}$  程度の寿命を持つ) の生成と消滅が絶えず発生していることも確認することができる.

我々のシミュレーション結果が先行研究の結果<sup>23)</sup> から進歩した点は、オリゴマー化に誘起されたクラスタリングを示したことにある. このクラスタリングにおいては、比較的強いカップリングで結合した少数の膜タンパク質複合体の存在が、S と C に富んだ安定したラフト (受容体クラスタラフト) の生成を促す<sup>29)</sup>.

実際、TL 複合体の生成は、クラスタ領域の T および L の囲い込みによって促進される. また、クラスタ内の TL 複合体の遅い運動はクラスタの分解を妨げ、最終的には TL 複合体を含むクラスタが支配的になり残存する.

SFVI ならびに SPT 実験結果との比較を行うため、

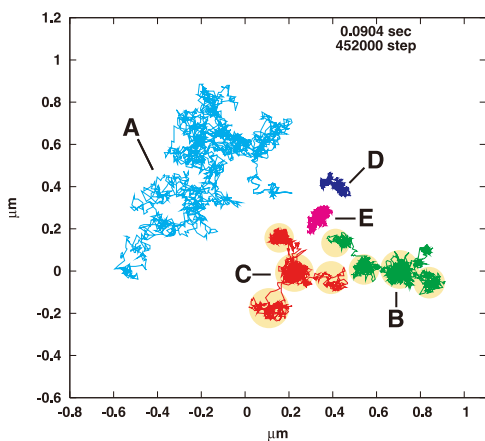


図 8 各成分の単一粒子の軌跡 ( $t = 0.004 - 0.090 \text{ sec}$ ). (A) DOPC, (B) スフィンゴミエリン, (C) コレステロール, (D) TCR, (E) LAT. クラスタに相当する範囲を円で示す.

Fig. 8 Trajectories of single molecules for DOPC (A), sphingomyelin (B), cholesterol (C), T-cell receptor (D), and LAT adaptor protein (E).

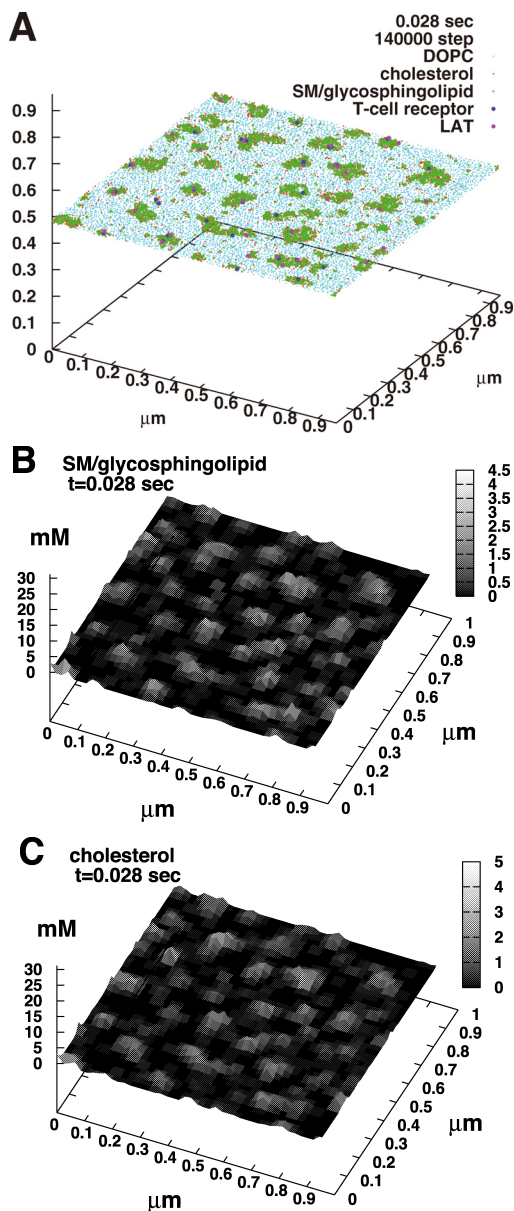


図 7 細胞膜表面におけるクラスタ形成のシミュレーション.  $t = 0.028 \text{ sec}$  において得られたスナップショット. 各軸の長さ目盛りは  $\mu\text{m}$ . (A) 分子の種: (シアン) DOPC, (赤) コレステロール, (緑) スフィンゴ糖脂質, (青) T 細胞受容体, および (マゼンタ) LAT アダプタ・タンパク質. (B) (A) におけるスフィンゴミエリンの濃度を  $22^3 \text{nm}^3$  のマスごとに高さ軸方向にグレースケールで表示した結果. (C) 同様にコレステロールの濃度を高さ軸方向に表示.

Fig. 7 Snapshots from the simulation of clustering in the cell surface. (A) Every molecule is plotted by a color spot with its own species. (B) The concentration of sphingomyelin/glycosphingolipid at every  $22^3 \text{nm}^3$  is expressed in the 3rd axis with a gray scale. (C) The concentration of cholesterol is also expressed in the same fashion as in (B).

このシミュレーションから得られた典型的なサンプルの軌跡の表示を行った(図8および動画ファイル31)。クラスタリングが存在する状態において2つのタイプの特徴的な拡散運動が観察された。すなわち、主としてUが示すクラスタの間の空間を活発に動き回るタイプ(図8A), SならびにC(図8BおよびC)が示す比較的自由的な運動だがクラスタリングのない状態で示すものより遅い運動, およびTとL成分(図8DおよびE)について観察される遅い移動, の3つが観察された。興味深いことに, SとC成分は複数のクラスタを横切るホップ拡散を示す。すなわち, 分子の軌跡にほぼ同じサイズ(約 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ )を持つ塊状のものが現れる(図8BおよびC, クラスタに相当する範囲を円で示す)。このサイズは, ほぼ図7の中のクラスタリング領域の直径と等しい。

一方, TとLについては, ほとんどのTおよびLがクラスタ中でTL複合体を急速に形成するのでクラスタから脱出するのに必要なエネルギー・コストが増加する。このため, このホップ拡散はめったに生じない。図8DおよびEでは, 複合体形成後のTおよびL分子の動きを示している。これらはクラスタ内にとどまり続けており移動の範囲はその大きさ程度に制限されていることが分かる。

同様の性質は実験的にも観察データが示されている。すなわち, NRK (Normal Rat Kidney) 繊維芽細胞の細胞膜上において単一あるいは小集団のDOPE (リン脂質) 分子の軌跡のイメージを $25 \mu\text{sec}$ の時間分解能で追跡し記録した結果, 約 $0.2 \mu\text{m}$ の典型的なスケールを持ったホップ拡散を示すことが見出された<sup>9)</sup>。膜タンパク質の運動においては, Lck (TCR クラスタリングにリクルートされたSrcファミリータンパク質キナーゼ) の拡散速度は, TCR クラスタの刺激箇所からの距離が減少するにつれて減少した<sup>32)</sup>。これはクラスタリングドメインのなかで生じたタンパク質複合体がこれを構成する各タンパク質分子の運動を制限していることを示唆しており, 我々のデータと整合性がある。

#### 4. 結 論

我々のシミュレーション方法は粒子モデルを用いることにより分子の運動および相互作用の数理的解析を可能とする。分子の運動は3次元空間内のランダムウォークとして表現し, 相互作用は粒子間の結合プロセスおよび解離プロセスとしてそれぞれ表現する。これらの複合体の結合プロセスおよび解離プロセスは, エネルギー変化を考慮したモデルに基づいている。つ

まり, 活性化エネルギーに基づく遷移確率によって結合と解離のプロセスが進行する。これらのプロセスにおいて, 1つ1つの粒子は区別して扱われている。このため, 単一粒子の追跡を行うことが可能である。また, 分子の大きさ(排除体積)も考慮することができる。2.8節で詳しく述べたように, 従来の副空間をもちいる手法, すなわち, Gillespieのアルゴリズム<sup>24), 25)</sup>に基づいた以前の反応拡散方法<sup>15), 16)</sup>においては, これらの点を取り入れることは困難である。また, Mouritsenらのモンテカルロシミュレーション解析<sup>20) - 23)</sup>はクラスタリングに関する静的性質に限られていたが, 提案モデルにおいては時間依存性のある動的な性質を解析することが可能になった。

さらに, 我々の粒子シミュレーション・モデルは基本的に確率論であるので, 確率的な変動の大きさおよび影響を調べることは重要である。3.2節で述べた可逆酵素反応モデルの定量的解析を行うことによって, 濃度の平均値が速度論方程式理論から導いた理論曲線を再現することを実証した。しかしながら, 生の時間変化をみると個々のサンプルは平均値のまわりにつねに変動していることに気づく。この種の変動は固有ノイズに相当する。他方, 外部入力による変動は外因性ノイズと呼ばれる<sup>33), 34)</sup>。現在, 固有ノイズの定量的な解析, 特に,  $K_m$ と $V_{max}$ のような速度定数にたいしての依存性の検討を行っている。

このシミュレーション方法を使用して, 細胞膜におけるラフトと「流動モザイク」モデル<sup>35), 36)</sup>に関係したクラスタリング・パターンの存在を実証することに成功した。免疫細胞シグナル伝達では, ラフトはT細胞のLATのようなラフト親和性のアダプタ・タンパク質の「プラットフォーム」であり, 他のタンパク質からの異なるシグナルを絶縁しているとの仮説が示されている<sup>37), 38)</sup>。シミュレーションを用いてこれを確認するためには, (1)クラスタリングドメインを自動的に識別すること, ならびに(2)これらのドメイン間で輸送された物質の解析を行うことの2点がまず必要となる。これらの解析を近く行う予定である。

謝辞 本論文のシミュレーション計算は東京工業大学学術国際情報センター TSUBAME グリッドクラスタ, RIKEN スーパーコンバインドクラスタ (RSCC) を使用して行われた。

#### 参 考 文 献

- 1) Daumas, F., Destainville, N., Millot, C., Lopez, A., Dean, D. and Salome, L.: Confined diffusion without fences of a g-protein-coupled

- receptor as revealed by single particle tracking, *Biophys. J.*, Vol.84, No.1, pp.356–366 (2003).
- 2) Ritchie, K. and Kusumi, A.: Single-particle tracking image microscopy, *Methods Enzymol.*, Vol.360, pp.618–634 (2003).
  - 3) Shav-Tal, Y., Darzacq, X., Shenoy, S.M., Fusco, D., Janicki, S.M., Spector, D.L. and Singer, R.H.: Dynamics of single mRNPs in nuclei of living cells, *Science*, Vol.304, pp.1797–1800 (2004).
  - 4) Shav-Tal, Y., Singer, R.H. and Darzacq, X.: Imaging gene expression in single living cells, *Nat. Rev. Mol Cell Biol.*, Vol.10, pp.855–861 (2004).
  - 5) Fusco, D., Accornero, N., Lavoie, B., Shenoy, S.M., Blanchard, J.M., Singer, R.H. and Bertrand, E.: Single mRNA molecules demonstrate probabilistic movement in living mammalian cells, *Curr. Biol.*, Vol.13, No.2, pp.161–167 (2003).
  - 6) Murase, K., Fujiwara, T., Umemura, Y., Suzuki, K., Iino, R., Yamashita, H., Saito, M., Murakoshi, H., Ritchie, K. and Kusumi, A.: Ultrafine membrane compartments for molecular diffusion as revealed by single molecule techniques, *Biophys. J.*, Vol.86, pp.4075–4093 (2004).
  - 7) Kusumi, A., Ike, H., Nakada, C., Murase, K. and Fujiwara, T.: Single-molecule tracking of membrane molecules: Plasma membrane compartmentalization and dynamic assembly of raft-philic signaling molecules, *Sem. in Immunol.*, Vol.17, pp.3–21 (2005).
  - 8) Barenholz, Y.: Sphingomyelin and cholesterol: From membrane biophysics and rafts to potential medical applications, *Subcell Biochem.*, Vol.37, pp.167–215 (2004).
  - 9) Fujiwara, T., Ritchie, K., Murakoshi, H., Jacobson, K. and Kusumi, A.: Phospholipids undergo hop diffusion in compartmentalized cell membrane, *J. Cell Biol.*, Vol.157, pp.1071–1081 (2002).
  - 10) Gardiner, C.W.: *Handbook of stochastic methods*, Springer, Berlin (2004).
  - 11) Kramers, H.A.: Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions, *Physica*, Vol.7, pp.284–304 (1940).
  - 12) Arrio-Dupont, M., Foucault, G., Vacher, M., Devaux, P.F. and Cribier, S.: Translational diffusion of globular proteins in the cytoplasm of cultured muscle cells, *Biophys. J.*, Vol.78, pp.901–907 (2000).
  - 13) Smoluchowski, M.V.: Versuch einer mathematischen theorie der koagulationskinetik kolloider losungen, *Z. Physic. Chem.*, Vol.92, pp.129–168 (1917).
  - 14) Collins, F.C. and Kimbal, G.E.: Diffusion-controlled reactions in liquid solutions, *Industrial and Engineering Chemistry*, Vol.41, pp.2551–2553 (1949).
  - 15) Stundzia, A.B. and Lumsden, C.J.: Stochastic simulation of coupled reaction-diffusion processes, *J. Compt. Phys.*, Vol.127, pp.196–207 (1996).
  - 16) Elf, J., Doncic, A. and Ehrenberg, M.: Mesoscopic reaction-diffusion in intracellular signaling, *Fluctuations and noise in biological, biophysical and biomedical systems*, Bezrukov, S., et al. (Eds.), pp.114–124, SPIE, Bellingham, WA. (2003).
  - 17) Pink, D.A. and Carroll, C.E.: A model of Cholesterol in Lipid Bilayers, *Phys. Lett.*, Vol.66A, pp.157–160 (1978).
  - 18) Pink, D.A., Green, T.J. and Chapman, D.: Raman scattering in bilayers of saturated phosphatidylcholines, *Biochemistry*, Vol.19, pp.349–356 (1980).
  - 19) Caille, A., Pink, D., Verteuil, F.D., Zuckermann, M.J. and Chapman, D.: Theoretical models for quasi-two-dimensional mesomorphic monolayers and membrane bilayers, *Can. J. Phys.*, Vol.58, pp.581–611 (1980).
  - 20) Cruzeiro-Hansson, L., Ipsen, J.H. and Mouritsen, O.G.: Intrinsic Molecules in Lipid Membranes change the lipid-domain interfacial area: Cholesterol at domain interfaces, *Biochim Biophys. Acta.*, Vol.979, pp.166–176 (1989).
  - 21) Mouritsen, O.G.: Computer simulation of cooperative phenomena in lipid membranes, *Molecular Description of Biological Membrane Components by Computer Aided Conformational Analysis*, Brasseur, R. (Ed.), pp.3–83, CRC Press, Boca Raton, FL (1990).
  - 22) Mouritsen, O.G. and Jorgensen: Micro-, nano- and meso-scale heterogeneity of lipid bilayers and its influence on macroscopic membrane properties, *Molecular Membrane Biology*, Vol.12, pp.15–20 (1995).
  - 23) Gil, T., Ipsen, J.H., Mouritsen, O.G., Sabra, M.C., Sperotto, M.M. and Zuckermann, M.J.: Theoretical analysis of protein organization in lipid membranes, *Biochem Biophys. Acta.*, Vol.1376, pp.245–266 (1998).
  - 24) Gillespie, D.T.: A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions, *J. Compt. Phys.*, Vol.22, pp.403–434 (1976).
  - 25) Gillespie, D.T.: Exact stochastic simulation

- of coupled chemical reactions, *J. Phys. Chem.*, Vol.81, No.25, pp.2340–2361 (1977).
- 26) Subczynski, W.K., Antholine, W.E., Hyde, J.S. and Kusumi, A.: Microimmiscibility and three-dimensional dynamic structures of phosphatidylcholine-cholesterol membranes: Translational diffusion of a copper complex in the membrane, *Biochemistry*, Vol.29, pp.7936–7945 (1990).
- 27) Pasenkiewicz-Gierula, M., Subczynski, W.K. and Kusumi, A.: Influence of phospholipid unsaturation on the cholesterol distribution in membranes, *Biochemistry*, Vol.71, pp.1311–1316 (1991).
- 28) Bretscher, M.S. and Munro, S.: Cholesterol and the Golgi apparatus, *Science*, Vol.261, pp.1280–1281 (1993).
- 29) Kusumi, A., Koyama-Honda, I. and Suzuki, K.: Molecular dynamics and interactions for creation of stimulation-induced stabilized rafts from small unstable rafts, *Traffic*, Vol.5, pp.213–230 (2004).
- 30) [http://big.gsc.riken.jp/index\\_html/Members/azuma/folder.2006-11-18.5752876882/folder.2007-01-08.5321076425/140.mpg](http://big.gsc.riken.jp/index_html/Members/azuma/folder.2006-11-18.5752876882/folder.2007-01-08.5321076425/140.mpg)
- 31) [http://big.gsc.riken.jp/index\\_html/Members/azuma/folder.2006-11-18.5752876882/folder.2007-01-08.5321076425/143.mpg](http://big.gsc.riken.jp/index_html/Members/azuma/folder.2006-11-18.5752876882/folder.2007-01-08.5321076425/143.mpg)
- 32) Ike, H., Kosugi, A., Kato, A., Iino, R., Hirano, H., Fujiwara, T., Ritchie, K. and Kusumi, A.: Mechanism of Lck recruitment to the T-cell receptor cluster as studied by single-molecule-fluorescence video imaging, *Chemphyschem*, Vol.4, No.6, pp.620–626 (2003).
- 33) Elowitz, M.B., Levine, A.J., Siggia, E.D. and Swain, P.S.: Stochastic gene expression in a single cell, *Science*, Vol.297, pp.1183–1186 (2002).
- 34) Swain, P.S., Elowitz, M.B. and Siggia, E.D.: Intrinsic and extrinsic contributions to stochasticity in gene expression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.99, No.20, pp.12795–12800 (2002).
- 35) Singer, S.J. and Nicolson, G.L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes, *Science*, Vol.175, pp.720–730 (1972).
- 36) Barenholz, Y. and Cevc, G.: Structure and properties of membranes, *Physical Chemistry of Biological Surfaces*, Baszkin, A. and Norde, W. (Eds.), pp.171–241, Marcel Dekker, New York (2000).
- 37) Veillette, A.: Specialized adaptors in immune cells, *Curr. Opin. Cell Biol.*, Vol.16, pp.146–155 (2004).
- 38) Leo, A. and Schraven, B.: Networks in signal transduction: The role of adaptor proteins in

platelet activation, *Platelets*, Vol.11, pp.429–445 (2000).

(平成 18 年 11 月 27 日受付)

(平成 19 年 1 月 9 日再受付)

(平成 19 年 2 月 8 日採録)



我妻 竜三 (正会員)

平成 13 年東京大学大学院理学系研究科物理学専攻博士課程修了。同年理化学研究所入所。現在独立行政法人理化学研究所ゲノム科学総合研究センター研究員。システムバイオロジー、薬物動態等分子生物学、生化学、バイオインフォマティクスに関係したシミュレーションの研究に従事。博士(理学)。



小林 弘

昭和 49 年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了，博士(薬学)。昭和 49 年東京大学薬学部教務職員，昭和 51 年コロラド大学医学部に留学(2年間)，昭和 51 年東京大学薬学部助手，昭和 53 年千葉大学生物活性研究所助教授，昭和 60 年ミシガン大学歯学部留学(1年間)，昭和 62 年に千葉大学薬学部配置換え後，平成 8 年より千葉大学薬学部教授。生物の耐酸性機構，シグナル伝達機構の分子生物学的研究およびこれらのシミュレーション解析研究に従事。



山本 知幸

平成 9 年東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻博士課程修了。学術振興会特別研究員 P.D. 等を経て，現在，北陸先端科学技術大学院大学知識科学研究科助教。複雑系，理論生物学，バイオメカニクスに関連した理論および実験的研究に従事。博士(学術)。



小長谷明彦 (正会員)

昭和 55 年東京工業大学大学院情報科学専攻修士課程修了，同年日本電気株式会社入社。平成 9 年北陸先端科学技術大学院大学に転出後，平成 15 年より独立行政法人理化学研究所勤務，東京工業大学客員教授を兼務。バイオインフォマティクス，知識処理ならびにグリッドコンピューティングに興味を持つ。工学博士。