

2D random walk 와 세포 확산 비교 연구

권태진

서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동) 서강대학교, 화학과, 121-742

E-mail: taejin1112@gmail.com

본 연구에서는 random walk하는 입자와 암세포 확산을 비교하여 Fick's law를 따르는 확산 모형과 암세포 확산의 차이를 밝힌다. 암세포 확산은 암 전이 메커니즘을 이해하는데 매우 중요하다. 하지만 아직까지 암세포 확산은 정확하게 이해되지 않고 있다. 따라서 이번 연구에서는 가장 간단한 2차원 random walk와 암세포 확산을 비교하고, 동역학적인 차이를 규명해 암세포 확산을 이해하고자 한다. Random walk하는 입자는 EDISON 전산화학 전문센터의 프로그램 중 dynamic Monte Carlo(dynamic MC) 전산 모사 소프트웨어를 이용하여 2차원에서 움직이는 레나드-존스 입자의 운동을 통해 살펴보았다. 암세포 확산은 실제 암세포의 시간에 따른 위치 변화 정보 (세포의 궤적)를 직접 구하여 분석하였다. Dynamic MC 결과는 Fickian 확산 모형을 잘 따르는 것을 평균 제곱 거리와 밀도 함수를 통해 확인할 수 있었다. 암세포 확산의 경우 평균 제곱 거리는 시간에 대해서 선형적으로 비례하지만 밀도 함수는 가우시안 형태로 나오지 않으며 Fick's law를 따르는 확산 모형과 다른 확산 형태를 보인다. 이러한 확산 형태는 암세포의 동역학적인 다양성 때문에 나타나며 각각의 암세포가 다른 운동성을 가지는 것에 기인하는 것으로 보인다.

핵심어 : dynamic Monte Carlo , Cell diffusion, Non-fickian

서론

다양한 계에서 물질의 확산을 이해하는 것은 학문적, 산업적으로 매우 중요하며 실험적으로 형광 분광법¹, NMR주사 방법², 산란 방법³ 등과 같은 정확한 확산 계수를 측정하는 연구와 Molecular Dynamics(MD), Brownian Dynamics(BD)와 같은 전산 모사 방법을 통해 다양한 동역학적인 성질을 계산하여 확산을 이해하려는 연구가 많이 진행되어 왔다. 그런데 기체의 확산이나 수용액에서 콜로이드 입자와 같은 간단한 계에서는 기존의 확산 모형으로 잘 설명되지만 복잡한 계에서는 많은 경우에 기존의 확산 모형으로 설명되지 못한다^{4,5,6}. 특히 세포의 확산은 Fick's law를 따르지

않으며 다양한 확산 양상을 보인다⁷.

세포의 확산은 세포 조직 성장⁸, 조직 재생⁹과 같은 다양한 생명현상에서 중요하며 특히 암 전이 과정에서 핵심적인 개념으로 알려졌다¹⁰. 암 전이 과정은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데 첫 번째는 세포 조직 내에서 발생한 암세포가 확산에 의해 움직이는 과정이고 두 번째는 세포 조직 내에서 움직이던 암세포가 혈관에 침투하여 혈액을 타고 흘러가는 과정이다. 이 때 첫 번째 과정에서의 암세포의 확산 속도가 암 전이 속도를 결정하는데 큰 영향을 준다고 알려졌다. 하지만 암세포의 확산 메커니즘은 아직 분명하게 밝혀지지 않았으며 따라서 본 연구에서는 배양 배지 위에서 일어

나는 암세포 확산과 random walk하는 입자의 확산을 비교함으로써 두 확산의 차이를 통해 암세포 확산을 이해하려고 한다.

본 연구에서 얻은 암세포 확산 결과를 보면 평균 제곱 거리는 시간에 선형으로 비례하지만 밀도 함수가 가우시안 형태가 나오지 않는 것을 확인할 수 있다. 이러한 확산 형태는 밀도가 크고 온도가 낮은 조건에서 입자가 동역학적으로 다양한 양상을 보이기 때문에 나타나는 것이 알려져 있다^{11,12,13}.

이론 및 계산방법

본 연구에서는 입자의 확산을 dynamic Monte Carlo(dynamic MC) 방법으로 전산 모사한다. 그런데 Monte Carlo 방법은 기본적으로 동역학적인 성질을 보기 위한 방법이 아니므로 dynamic MC와 기존의 확산 모형을 비교하는 일이 선행되어야 한다. 따라서 학부에서 배우는 Fick's law와 random walk¹⁴를 통해 기존의 확산 모형과 dynamic MC를 비교하려고 한다.

Fick's law(1)는 유량이 농도 기울기에 비례하는 관계를 나타내며 이러한 관계를 따르는 확산 모형을 Fickian 확산 모형이라고 한다. 그리고 닫힌 계 조건에서 물질이 생성, 제거되지 않는 경우 Fickian 확산 모형은 diffusion equation(2)을 만족한다. Diffusion equation은 밀도 함수와 확산 계수에 관한 정보를 가지고 있어 Fickian 확산 모형을 이해하는데 중요한 식이다.

$$J(\mathbf{r}, t) = -D\nabla\rho(\mathbf{r}, t) \quad (1)$$

$$\frac{\partial\rho(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = D\nabla^2\rho(\mathbf{r}, t) \quad (2)$$

\mathbf{r} 은 위치, t 는 시간, J 는 유량, ρ 는 밀도 함수, D 는 확산 계수이다.

Monte Carlo 방법은 기본적으로 Metropolis 알고리즘을 통해 계의 평형 상태 배열만 고려하여 앙상블 평균을 통해 계의 성질을 계산하기 위해 사용된다. 위 과정에서 새로운 배열을 얻는 부분을 자세하게 서술하면 다음과 같다. 계 내부에 입자를 무작위적으로 선택하고 선택된 입자를 각 좌표축 마다 무작위적인 크기를 가지고 움직인 후, acceptance probability를 계산하여 입자의 새로운 위치를 받아들일지 거절할지 결정한다. 이때 acceptance probability는 입자의 이동 전후 내부 에너지 변화로부터 결정되며 새롭게 얻은 배열은 이전 배열보다 내부 에너지가 더 작다면 무조건 받아들여지고 이전 배열보다 내부에너지가 크다면 두 배열의 볼츠만 인자의 비율로 받아들여진다(3)

$$\begin{aligned} \mathcal{A} &= 1 && (U_n \leq U_o) \\ &= \exp\{-\beta(U_n - U_o)\} && (U_n > U_o) \end{aligned} \quad (3)$$

\mathcal{A} 는 acceptance probability, β 는 $1/k_B T$, U_n 와 U_o 는 입자의 새로운 배열에 대한 내부 에너지와 이전 배열에 대한 내부 에너지이다. 위와 같은 과정을 반복할 때마다 입자의 움직임을 기록하면 움직이는 입자들의 궤적을 얻을 수 있다. 이렇게 입자들의 궤적을 얻어내는 방법을 dynamic MC 라고 한다.

이제 간단하게 생각하기 위해 입자의 움직임을 1차원에서만 고려해보자[그림 1].

입자는 $[-\frac{\delta_0}{2}, \frac{\delta_0}{2}]$ 내에서 무작위적인 크기 λ 를 가지고 움직이며 시간은 MC 방법을 실행하기 위해 시도된 시행 횟수(MCS)를 계의 총 입자 개수로 나누어 준 것으로 정의된다.

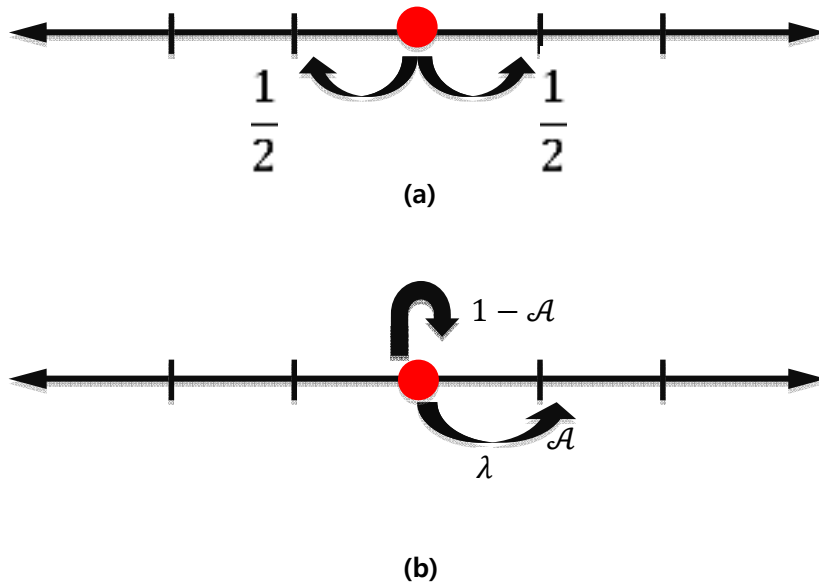


그림 1. (a) 1차원 에서 random walk 모형, 입자는 일정한 크기를 가지고 움직이며 $\frac{1}{2}$ 의 확률로 왼쪽 또는 오른쪽으로 이동한다. (b) 1차원에서 dynamic MC , 입자는 $[-\frac{\delta_0}{2}, \frac{\delta_0}{2}]$ 범위 내에서 무작위적인 크기를 가지고 움직이며 $\lambda > 0$ 일 경우 오른쪽으로 이동하고 $\lambda < 0$ 일 경우 왼쪽으로 이동한다. 입자의 새로운 위치는 \mathcal{A} 의 확률로 받아들여지고 새로운 위치가 받아들여지지 않으면 입자는 제자리에 위치한다.

입자가 시간 $t + \Delta t$ 에서 위치 x 에 있을 확률은 시간 t 에서 위치 $x - \lambda$ 에 있던 입자가 위치 x 로 오는 경우와 시간 t 에서 위치 x 에 있던 입자가 이동이 거절되어 제자리에 있는 경우이다(4). 이때 Δt , λ 가 작다고 가정할 경우 테일러 전개하여 나타낼 수 있다(5).

$$P(x, t + \Delta t) = (1 - \mathcal{A}')P(x, t) + \mathcal{A}P(x - \lambda, t) \quad (4)$$

$$\frac{\partial P(x, t)}{\partial t} \Delta t \simeq (\mathcal{A} - \mathcal{A}')P(x, t) + \mathcal{A} \left\{ -\frac{\partial P(x, t)}{\partial x} \lambda + \frac{\partial^2 P(x, t)}{\partial x^2} \right\} \quad (5)$$

입자가 한 개 일 때만 고려하면 입자는 상호작용하지 않으므로 $\mathcal{A}, \mathcal{A}'$ 는 모두 1이 되고 λ, λ^2 은 주어진 범위 $[-\frac{\delta_0}{2}, \frac{\delta_0}{2}]$ 내에서 평균 크기를 갖는 $\langle \lambda \rangle, \langle \lambda^2 \rangle$ 로 볼 수 있다. 이것을 계산하면 $\langle \lambda \rangle = 0$ 와 $\langle \lambda^2 \rangle = \frac{\delta_0^2}{24\Delta t}$ 이고 (5)식을 정

리하면 diffusion equation(2) 과 같은 형태의 식을 얻을 수 있다(6).

$$\frac{\partial P(x, t)}{\partial t} \simeq \frac{\delta_0^2}{24\Delta t} \frac{\partial^2 P(x, t)}{\partial x^2} \quad (6)$$

따라서 입자가 다른 입자와 상호작용하지 않을 때 확산계수 $D_0 = \frac{\delta_0^2}{24\Delta t}$ 이다. 이 결과는 Einstein-Smoluchowski 식과 유사한 결과를 나타낸다. 입자가 계의 여러 개가 존재할 경우 입자간 상호작용 때문에 확산계수 D 는 D_0 보다 작아지게 된다. 일반적인 확산 모형의 경우 입자 간 충돌에 의해서 확산 계수가 영향을 받으며 속도론적 모형에서 이상 기체의 확산 계수는 입자의 수밀도에 반비례한다. 반면, dynamic MC 방법에서는 (5) 식에 따라 입자 간 충돌이 아닌 acceptance probability에 의해 확산계수가 영향을 받는다. 수밀도와 확산계수

의 관계에 대한 자세한 내용은 결과 및 토의에서 다룰 것이다. Dynamic MC 방법은 특정 조건에서 diffusion equation을 만족하므로 diffusion equation 으로부터 얻어지는 밀도 함수(7), 평균 제곱 거리(8)를 통해 Dynamic MC 방법으로 전산 모사한 계의 확산 계수를 역으로 구할 수 있다.

$$\rho(r, t) = \frac{n_0}{4(\pi Dt)} e^{-r^2/4Dt} \quad (7)$$

$$\langle x^2 \rangle = 4Dt \quad (8)$$

이를 이용하여 dynamic MC 전산 모사 방법으로 밀도 함수와, 평균 제곱 거리를 (9),(10) 식을 통해 계산하고 확산 계수를 구할 것이다.

$$\langle r^2(t) \rangle = \langle [r(t) - r(0)]^2 \rangle \quad (9)$$

$$\rho(r, t) = \frac{1}{N} \langle \sum_{i=1}^N \delta[x - |x_i(t) - x_i(0)|] \rangle \quad (10)$$

Dynamic MC 방법은 EDISON 전산화학 전문 센터의 프로그램 중 '2차원 고체, 액체 상분리 해석 및 설계' 전산 모사 소프트웨어를 응용하여 사용하였다. 프로그램의 결과 파일 중 lj.gro 파일을 통해 입자의 궤적을 얻어내었고 periodic boundary condition 이 적용되어 있어 입자의 위치를 보정해주는 작업을 추가로 해주었다. 시뮬레이션을 통해 얻은 모든 결과는 NVT 앙상블에서 $k_B T = 1.0$ 조건에서 시행하였다. 평균 제곱 거리는 시간을 위해 평균 제곱 거리에서 최대 시간 간격은 전체 궤적에 총 시간의 1/10 이 되도록 하였다.

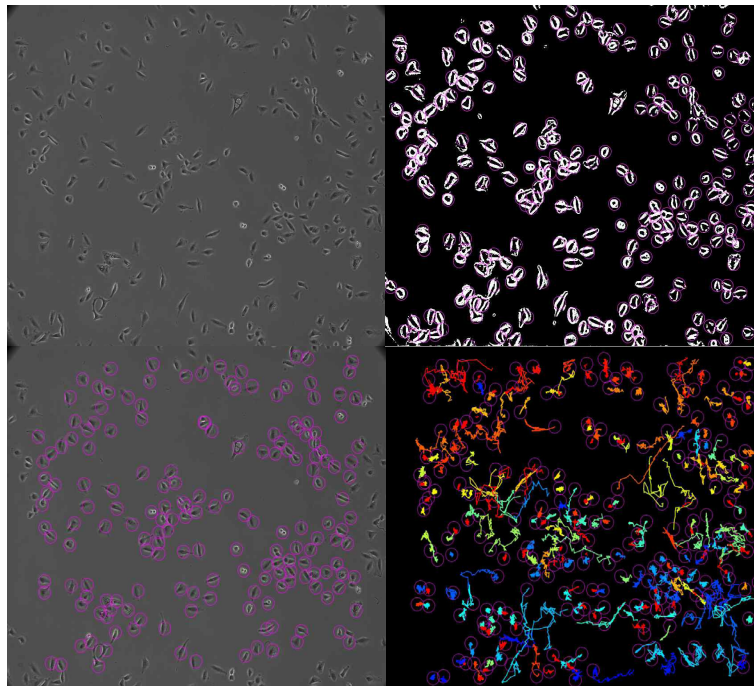


그림 2.(왼쪽 상단) A549 세포 배양 배지의 스냅샷, positive contrast 현미경으로 24시간 동안 촬영하였다.(오른쪽 상단)이미지 변환과 세포 자동화 구별 프로그램, 세포 자동화 구별 프로그램을 사용하기 위해 스냅샷 사진을 흑백으로 변환하였다. 변환된 사진을 통해 세포를 구별하였다.(왼쪽 하단)보정 작업, 세포를 인지하지 못한 경우 실제 스냅샷 사진을 참고하여 보정하여 주었다. (오른쪽 하단)세포 궤적 자동화 탐지 프로그램, TrackMate 플러그인을 통해 세포의 궤적을 얻어내었다.

세포는 A549 폐암 세포를 사용하였고 세포 분열을 최대한 저해하기 위해 serum starvation 조건에서 배양되었다. 세포의 움직임을 positive contrast 현미경을 통해 총 24시간 동안 스냅샷을 찍었고 20분 간격으로 찍힌 73개의 스냅샷만 고려하였다. 73장의 스냅샷으로부터 세포의 궤적을 얻어내기 위해서 Fiji 프로그램 중 TrackMate 플러그인을 사용하였다. 사진 크기는 2400*2400 픽셀이고 세포의 좌표값은 스냅샷에 픽셀값으로 정하였다. 세포 하나를 지름이 80픽셀인 원으로 추정 세포를 구별하였으며 정확도를 위해 추가로 보정 작업을 해주었다. 움직임을 관찰하는 시간동안 분열하지 않은 94개의 세포만 궤적을 구하였다[그림 2]. 궤적을 통해 구한 평균 제곱 거리는 시간 평균을 위해 전체 궤적 시간의 1/4 까지 고려하였다. dynamic MC 결과와 비교하기 위해 세포의 크기로 지정한 80 픽셀을 1σ 로 정하였고 계의 크기는 28.5σ 로 전산 모사를 실행하였다. 또한 수밀도는 0.115로 세포의 개수와 입자의 개수를 맞추었다.

1.dynamic MC 와 Fickian 확산 모형 비교

dynamic MC 결과가 Fickian 확산 모형을 따르는지 보기 위해 $\delta_0 = 0.1$ 에서 수밀도를 0.1~0.8까지 고려 하여 평균 제곱 거리와 밀도 함수를 구하였다[그림3(a),(b)]. [그림 3(a)]에서 각 수밀도에 따른 평균 제곱 거리가 긴 시간 영역에서 시간에 대해 선형적으로 비례하므로 (8)식을 이용하여 확산 계수를 계산하였다. dynamic MC로 구한 밀도 함수가 평균 제곱 거리를 통해 계산한 확산 계수에 대하여 잘 맞는 것을 확인하였고 [그림3(b)] 따라서 위 결과로부터 dynamic MC 결과가 Fickian 확산 모형을 잘 따르는 것을 알 수 있다. 또한 수밀도가 커질수록 D 는 수밀도에 대해 감소하는 것을 확인할 수 있는데[그림4] 속도론적 모형에서는 다른 입자에 대한 영향이 충돌 빈도로 나타나지만 dynamic MC는 acceptance probability를 통해 나타난다. 수밀도가 커질수록 입자 간 평균 거리는 짧아지게 되므로 큰 λ 에 대해 acceptance probability가 낮아지게 되고 (5)식에 따라 확산계수가 작아지게 된다.

결론 및 토의

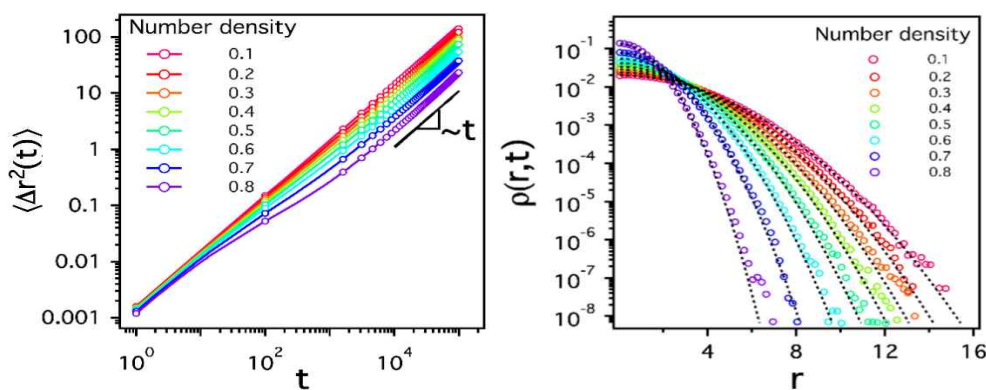


그림 3.(a)수밀도에 따른 평균 제곱 거리, $\delta_0=0.1$ 이고 계의 크기는 20σ 로 dynamic MC 를 하였다. 짧은 시간 영역에서 시간에 대해 선형으로 나오다가 다시 긴 시간 영역에서 시간에 대해 선형으로 나오는 것을 확인 할 수 있다.(b)수밀도에 따른 밀도 함수, 점선은 평균 제곱 거리로부터 구한 D 를 (7) 식에 대입하여 구한 식이고 원은 dynamic MC를 통해 구한 밀도 함수이다

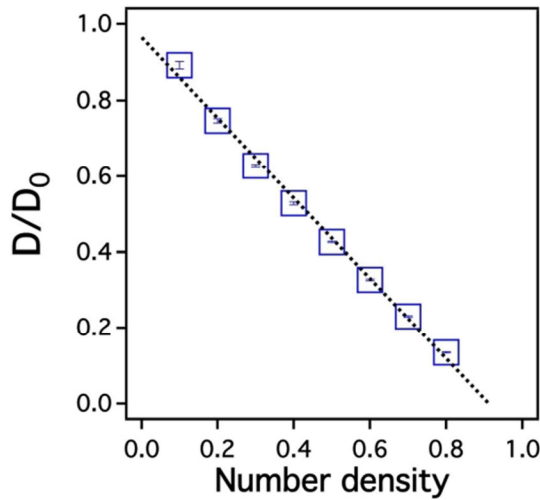


그림 4. 수밀도에 따른 D/D_0 , [그림 3]에서 구한 D 를 사용하였고 D_0 은 $D_0 = \frac{\delta_0^2}{24}$ 에서 $\delta_0 = 0.1$ 하여 구하였다. 수밀도에 따라 선형으로 D/D_0 감소하는 것을 확인할 수 있다. 연장하여 x절편과 y절편을 구하면 수밀도가 0일 때 $D/D_0=0$, 수밀도가 1.0일 때 $D/D_0=0$ 으로 예측된다.

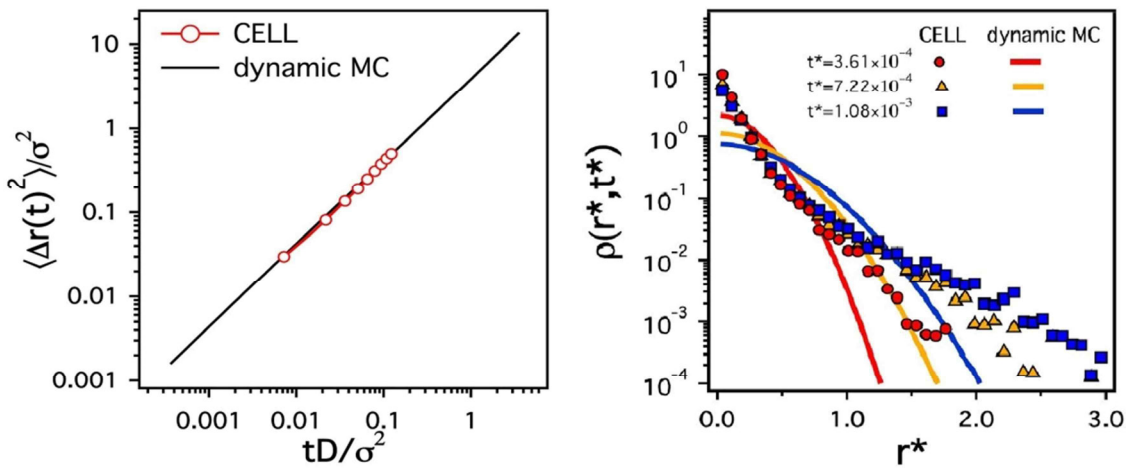


그림 5. (a)세포와 dynamic MC의 평균 제곱 거리, dynamic MC와 세포의 단위를 맞춰주었다. (b) 세포와 dynamic MC의 밀도 함수, $r^{\square} = \sigma$ 이고 $t^{\square} = D / \sigma^2$ 이다. 실선은 dynamic MC의 밀도 함수이고 도형은 세포의 밀도 함수이다. 각 시간에 대해 밀도 함수를 비교하였고 빨강은 $t^{\square} = 3.61 \times 10^{-4}$, 노랑은 $t^{\square} = 7.22 \times 10^{-4}$, 파랑은 $t^{\square} = 1.08 \times 10^{-3}$ 이다.

2.dynamic MC 와 세포 확산 비교

dynamic MC 결과와 암세포 확산을 비교하기 위해 먼저 세포의 평균 제곱 거리를 구하였다. 세포의 평균 제곱 거리는 시간에 대해 선형으로 비례하였고 평균 제곱 거리로부터 확산계수 $2.891\text{pixel}^2/\text{min}$ 를 계산하였다. 암세포 확산을 dynamic MC와 비교하기 위해서 길이 단위는 앞서 세포의 크기를 1σ 로 정하여 맞추었고 시간 단위는 암세포의 확산 계수를 통해 맞추었다. dynamic MC에서 δ_0 를 바꾸어 암세포의 확산 계수를 같은 조건을 찾은 다음 시간에 확산 계수를 곱하여 시간 단위를 맞추었다. 암세포의 확산과 dynamic MC를 평균 제곱 거리를 세포와 dynamic MC의 평균 제곱 거리가 시간에 선형으로 비례하는 것을 확인할 수 있다[그림7(a)]. 그런데 밀도 함수에 경우 dynamic MC에서는 가우시안 형태인 반면 세포의 밀도함수는 다른 형태를 보인다[그림 7(b)]. 따라서 암세포의 확산은 Fickian 확산 모형과 다른 확산 형태임을 알 수 있다. 평균 제곱 거리는 시간에 대해 선형적으로 비례하지만 밀도함수가 가우시안 형태가 아닌 경우는 주로 밀도가 높고 온도가 낮은 조건에서 나타나는 것이 잘 알려져 있다^{11,12,13}. 그러한 조건에서 입자는 동역학적으로 다양한 양상을 보이는데 세포 또한 다양한 동역학적인 양상을 보이는 것을 밀도 함수의 형태를 통해 알 수 있다. dynamic MC의 밀도 함수를 기준으로 하여 세포의 밀도 함수가 좁은 영역은 같은 시간 동안 Fickian 확산 모형을 따르는 입자보다 세포가 더 느리게 움직인 것을 의미하고 넓은 영역은 세포가 더 빠르게 움직인 것을 의미한다. 세포의 다양한 동역학적인 양상은 실제 세포의 움직임을 스냅샷을 통해 보았을 때도 확인할 수 있었다. 이러한 세포의 다양한 동역학적인 양상은 낮은 수밀도에서 나타나므로 세포 자체의 운동성 때문에 나타나는 것으로 보

인다.

결론

본 연구에서는 암세포 확산을 random walk 하는 입자의 확산과 비교하였다. Random walk 하는 입자는 dynamic MC를 사용하여 전산 모사하였으며 Fickian 확산 모형에 잘 맞는 것을 확인하였다. 암세포 확산의 경우 평균 제곱 거리는 dynamic MC결과와 같이 시간에 대해 선형으로 비례하였지만, 밀도 함수는 가우시안 형태로 나오지 않았다. 이러한 확산 형태는 입자의 다양한 동역학적인 양상으로 인해, 확산이 긴시간 영역으로 넘어가는 과정에서 평균 제곱 거리가 시간에 다시 선형으로 비례하게 되는 시간과 밀도 함수가 가우시안 형태를 따르게 되는 시간이 달라지기 때문에 나타나는 것으로 설명된다¹¹. 실제 암세포의 스냅샷을 통해서도 거의 움직이지 않는 세포와 활발한 운동성을 보이는 세포가 동시에 존재하는 것을 확인할 수 있다. 하지만 이전 연구^{12,13}에서 보여주는 것과 달리 암세포의 경우 낮은 밀도에서부터 Fickian 확산 모형을 따르지 않으며 속도가 빠른 영역과 속도가 느린 영역이 구분되지 않는다. 세포에서 다양한 동역학적인 양상이 나타나는 이유는 각각의 암세포마다 가지고 있는 운동성이 다르기 때문으로 보이며 이 부분에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

감사의 글

본 논문은 2015년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단 첨단 사이언스·교육 허브 개발 사업의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. NRF-2012-M3C1A6035357)

참고문헌

1. Petrasek, Z; Schwille, P. *Biophys. J.* **2008**,94,1437-1448
2. B. Newling. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2008**,52,31-48
3. A. Meyer; S. Stuber; D. Holland-Moritz; O. Heinen; T. Unruh. *Phys. Rev. B* **2008**,77,092201
4. M. Levy; B. Berkowitz. *J. Contam. Hydrol.* **2003**, 64,3-4
5. B. Riviere; S. Shaw. *SIAM J. Numer. Anal.* **2006**,44,2650-2670
6. A. E. Carey; S. W. Wheatcraft; R. J. Glass; J. P. O'Rourke. *Water Resour. Res.* **1995**,31,2213
7. Wang; Yuliang; Jeong; Younkoo; Jhiang; Sissy, M. *PLOS ONE*, **2014**,9,e98762
8. Richard, A; Knazek; Pietro, M. Gullino; Peter O. Kohler. Robert L. Dedrick. *Science*, **1972**,178,65-67
9. Martin, P; Parkhurst SM; *Development*, **2004**,131,3021-3034
10. Suresh, S. *Acta Biometer*, **2007**,3,413-438
11. Kwon, G; Sung, BJ; Yethiraj, A. *J. Phys. Chem. B*, **2014**,118,098302
12. Kim, J; Kim C; Sung BJ. *Phys. Rev. Lett.* **2013**,110,047801
13. Levis, D; Berthier L. *Phys. Rev. E*, **2014**,89,062301
14. Atkins, P; Paula J. D. *Physical Chemistry*, 9th Ed.; Oxford University Press: Oxford, U.K., **2010**, pp.745-776