

## 研究課題別評価

### 1 研究課題名:

DNA ナノデバイス創製におけるシミュレーション技術の確立

### 2 研究者氏名: 川野聡恭(研究期間 H. 15. 10~H. 19. 3)

### 3 研究のねらい:

フォトリソグラフィーおよびプラズマエッチングに基づく超微細加工技術は著しい発展を遂げてきたが、その加工溝幅のさらなる微細化には、光の波長に起因した技術的限界が近づきつつある。DNAは塩基対の $\pi$ スタッキングを介した導電性を持つと言われ、線幅約2nmの導線として利用可能である。guanine-cytosine DNAがp型半導体、adenine-thymine DNAがn型半導体になることも実験的に示唆されているので、電子部品としての性質も合わせ持っている。また、自己組織化機能や分子認識機能を有し、生体との親和性も高いので、体内埋込型のセンサーとしても有望である。さらに、欧米では、DNAの熱変性機能やB型からZ型への構造転換機能を有効に利用し、これを駆動源としたDNAナノ機械の創製に関する基礎研究が進められている。本研究では、DNAの自己集合化機能を有効に利用したナノデバイス製造法について、最適設計手法の確立を目指した研究開発を理論ならびに実験の両面から行っている。DNAの機能発現やDNAナノ機械の製造は水溶液中で行われることから、水分子とDNAの相互干渉を特に重視する。また、温度、pHあるいは圧力といった製造工程の最適化に必要な工業的諸量の影響を的確に捉え、現象の時空間特性解明を主軸に置いた理論モデルおよびシミュレーション技術の確立を目的とする。すなわち、本研究は、分子流体力学を基盤として、量子化学、生命科学、電子工学および材料科学を先端融合化した学際研究「バイオ・ナノ流動ダイナミクス」の学理構築と、実用に供するDNAナノデバイス設計法の開発を目指す。

### 4 研究成果:

#### 4.1 マイカ基板上におけるDNAネットワークのフラクタル次元解析

Poly(dA)-poly(dT)DNA50塩基対を含む水溶液をマイカ基板に滴下し、広がった水溶液を高純度窒素ガスで除去した後に原子間力顕微鏡による観察を行った。流体力学的に滴下水溶液の挙動を考察すると、滴下地点が特異点となるものの、そこから液膜が広がり、距離が離れるにつれてその広がり速度は遅くなる。これらの流速と液膜厚さは簡単な流体力学的解析で説明可能である。したがって、観測地点によってDNAネットワークの性状が異なる可能性があり、これは水溶液の流動という大きなスケールの連続体力学的な物理現象がDNAと基板原子の干渉というナノスケールの物理化学現象に影響を及ぼすことに相当する。図1は水溶液の滴下位置からの距離 $r$ を変数として、2次元のフラクタル次元 $D_2$ および3次元の値 $D_3$ を計測したものである。ネットワークの画像からは際立った差異が見られないが、詳細に見当した結果、この $r$ は $D_3$ への影響がほとんどないものの、 $D_2$ への効果が特徴的に現れることがわかった。 $r$ と $D_2$ の関係を図2に示す。 $D_2$ は $r$

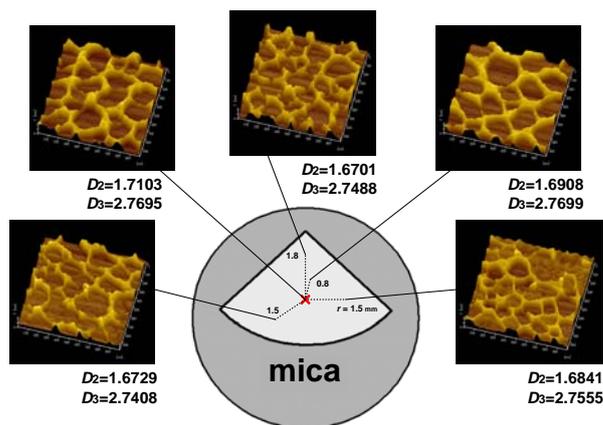


図1 マイカ基板に固着した DNA ネットワークの原子間力顕微鏡写真およびフラクタル次元

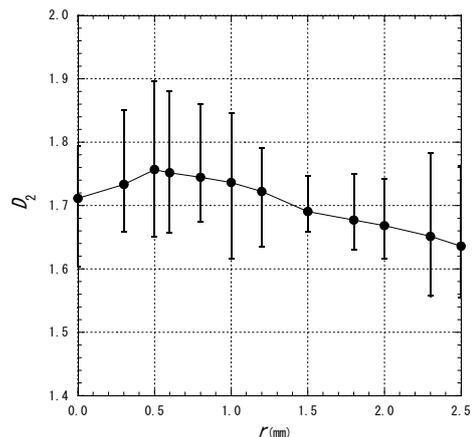


図2 水溶液滴下地点からの距離と二次元フラクタル次元の関係

に対してピーク値をとった後、徐々に減少している。これは、周囲の水分子の流動速度とほぼ対応しており、このようなマルチスケールマルチフィジクス現象を定量的に捉えることが世界に先駆けて可能となった。

#### 4.2 DNAの電荷移動に関するポーラロン解析

DNAの電気伝導性は、ワトソンとクリックがこの2重螺旋構造(B型DNA)を決定して直ちに指摘された特性である。すなわち、DNAの塩基対間隔が約0.34nmであるB型DNAにおいて、塩基対間における電子の $\pi$ 軌道が交わることから、電気伝導性が理論的に予想された。また、DNAのグアニンは他の塩基対に比べて酸化電位が突出して低く、外界からの物理化学的刺激によって電子を放出しやすい特性を有する。したがって、DNAにホールが生じやすくなり、poly(dG):poly(dC)DNAがp型半導体としての特性を有する可能性の理論的背景になっている。しかし、実験は、DNAと電極のインターフェース構築が難しいこと、DNA分子周囲の水分子を完全に除去することが困難であることに起因して、現在も、超伝導体説から絶縁体説まで諸説が著名雑誌で紹介されているような現状で、定説が確立されていない。一方、理論の分野ではDNAの電気伝導に関し米国物理学会を中心にポーラロン伝導解析が活発になされている。ここでは、図3のような理論モデル、すなわち、DNAのモデル化による分子動力学と電子の挙動に関するシュレーディンガー方程式のカップリング解析を行った。典型的なマルチスケールマルチフィジクス解析となるが、これらを取り持つパラメータは未解明のものが多く、従来の文献から採用している。特筆すべきは、研究の独自性を「水分子の熱振動(流動)」におき、解析に温度の概念を導入できたことにある。これは、「ものづくり」の視点から言えば、極めて重要な基礎知識であり、量子化学計算では得られない知見であるから、報告者が提唱している「バイオ・ナノ流動ダイナミクス」という新しい学術体系の根幹部分とも言える。図4はDNAのポーラロン伝導性に関する温度の影響を示している。図4の赤線の傾きが移動速度に対応しており、図4から明らかなように、DNAの電気

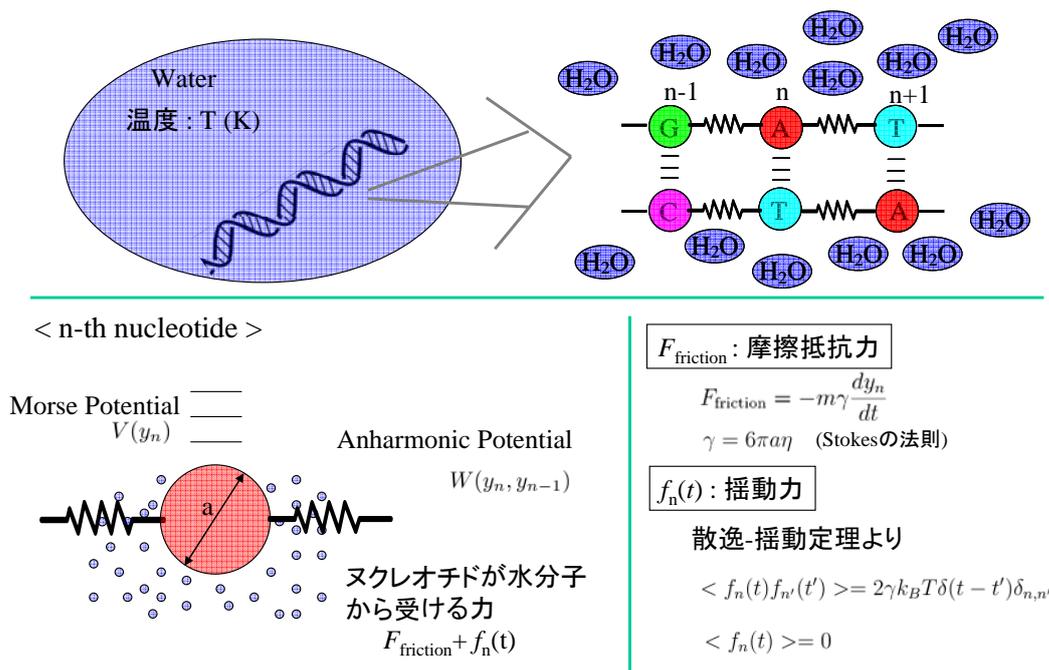


図3 DNAの電気伝導に関するポーラロン解析モデル

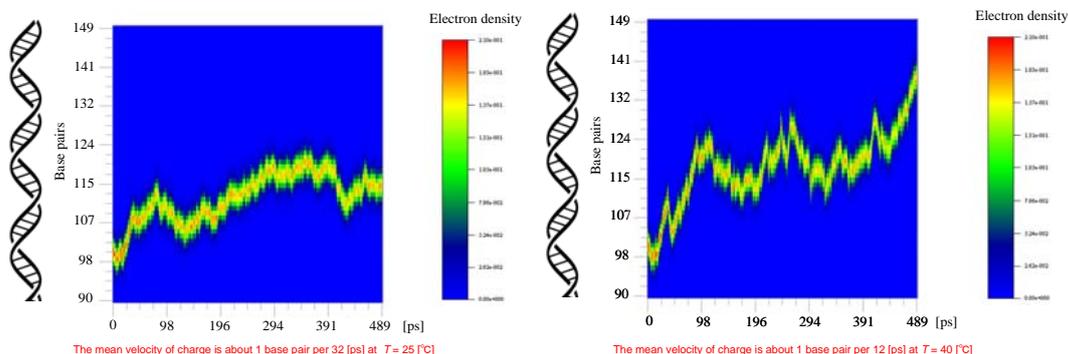


図4 DNAのポーラロン伝導に及ぼす温度の影響  
(左:  $T=25^{\circ}\text{C}$ , 右図:  $T=40^{\circ}\text{C}$ )

伝導の温度依存性が、金属的というよりむしろ半導体的であることに対応しており、諸説乱立するDNAの電荷移動メカニズムに対し、ひとつの示唆を与えるものである。ただし、本研究はモデル化の段階からポーロン伝導を仮定しているため、このような結果になることは当初から予測できなくもないが、少なくとも、周囲水分子の熱ゆらぎの影響を定量的に示すことができたのは大きな成果であると言える。

#### 4.3 大変形を伴うDNAの分子動力学シミュレーション

報告者は、広く知られている AMBER 力場を改良し、生体高分子の大変形や高温条件にも対応した力場ポテンシャルを提案し、並列化 MD シミュレーションにおいて、その有用性を確認して

いる。すなわち、結合項を次のようなモースポテンシャルに変換した独自のコードを作成した。

$$E_{\text{total}} = \sum_{\text{(morse) bonds}} D_e \left[ 1 - e^{-a(r-r_{eq})} \right]^2 + \sum_{\text{angles}} K_{\theta} (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{\text{dihedrals}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right]$$

右辺第一項は、 $r=r_{eq}$ を仮定して線形近似すれば、AMBERコードにおける右辺第一項と一致するため、我々のモデルは従来のモデルを完全に含有し、しかも、大変形挙動の取り扱いが可能となるように拡張されたことになる。物質毎のパラメータも簡単な理論解析により、既存のデータベースを利用して決定することができる。ここでは、水素終端したSiO<sub>2</sub>基板に固着する10塩基対poly(dA)・poly(dT) DNAの流動ダイナミクスシミュレーションを行った。シミュ

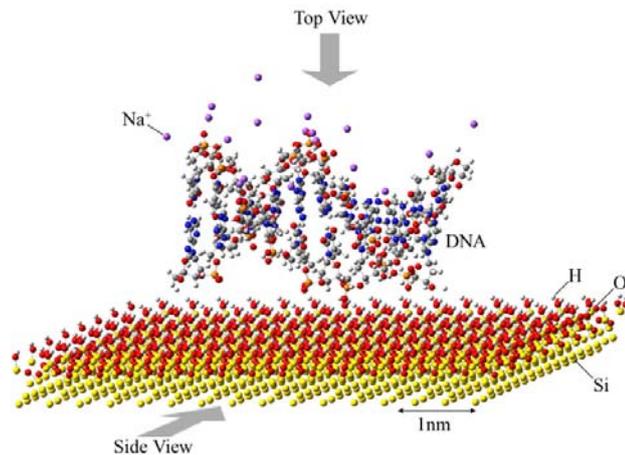


図5 コンピュータシミュレーションの初期条件(水分子を除く)

レーションモデルの概略とDNAの初期位置に関する計算条件を図5に示す。明瞭な可視化のため、周囲のH<sub>2</sub>O分子は描画していない。図5に示す視点でのMDシミュレーション結果を時間毎に並べたものを図6に示す。計算の初期においてカウンターカチオンがDNAから分離し、負に帯電したリン酸基がSiO<sub>2</sub>基板に引き寄せられていく様子が分かる。 $t=3000\text{ps}$ になるとDNAは基板に固着しているようである。基板表面からのDNA構成原子の最大高さは1.57nmであり、SiO<sub>2</sub>基板を用いた実験結果(省略)とも、初期直径以下となってDNAが基板に固着しているという点で良く一致している。ただし、リン酸基が強く基板に引き寄せられており、それに伴ってDNAの二重鎖が崩壊していることが分かる。表面電荷は本計算では近似的に全て+1(Hに付加)としているが、この程度の電荷でもDNAの形状が大きく崩れるため、基板に固着したDNAを用いる工業応用分野では、表面電荷の分布や蓄積に細心の注意を払う必要がある。

#### 4.4 粗視化モデルによるDNA分離デバイスの考案

DNAの分離は、遺伝子工学や分子生物学の分野において、非常に重要な技術の一つである。溶液中でのDNAの移動度は長さに依存しないため、電気泳動にはゲルが良く用いられる。しかし、このゲル電気泳動法は、適用できるDNAの長さに限界があったり、また一般的に分離に長い時間を要するなど、欠点が多い。これに対し、本研究では、微小な電極を周期的に配置したマイクロ流路を考えた(図7)。流路に電場が印加されると、高分子は電極から生じる電場から弱い拘束を受けながら流路内を移動する。この効果によって、高分子の移動度にサイズ依存性が

生じる。また、電極の電位を変化させる事で移動度のサイズ依存性を調節できる。ここでは、このような流路を開発する為の基礎研究として、強く帯電した鎖状高分子(DNA)の運動の3次元シミュレーションを紹介する。

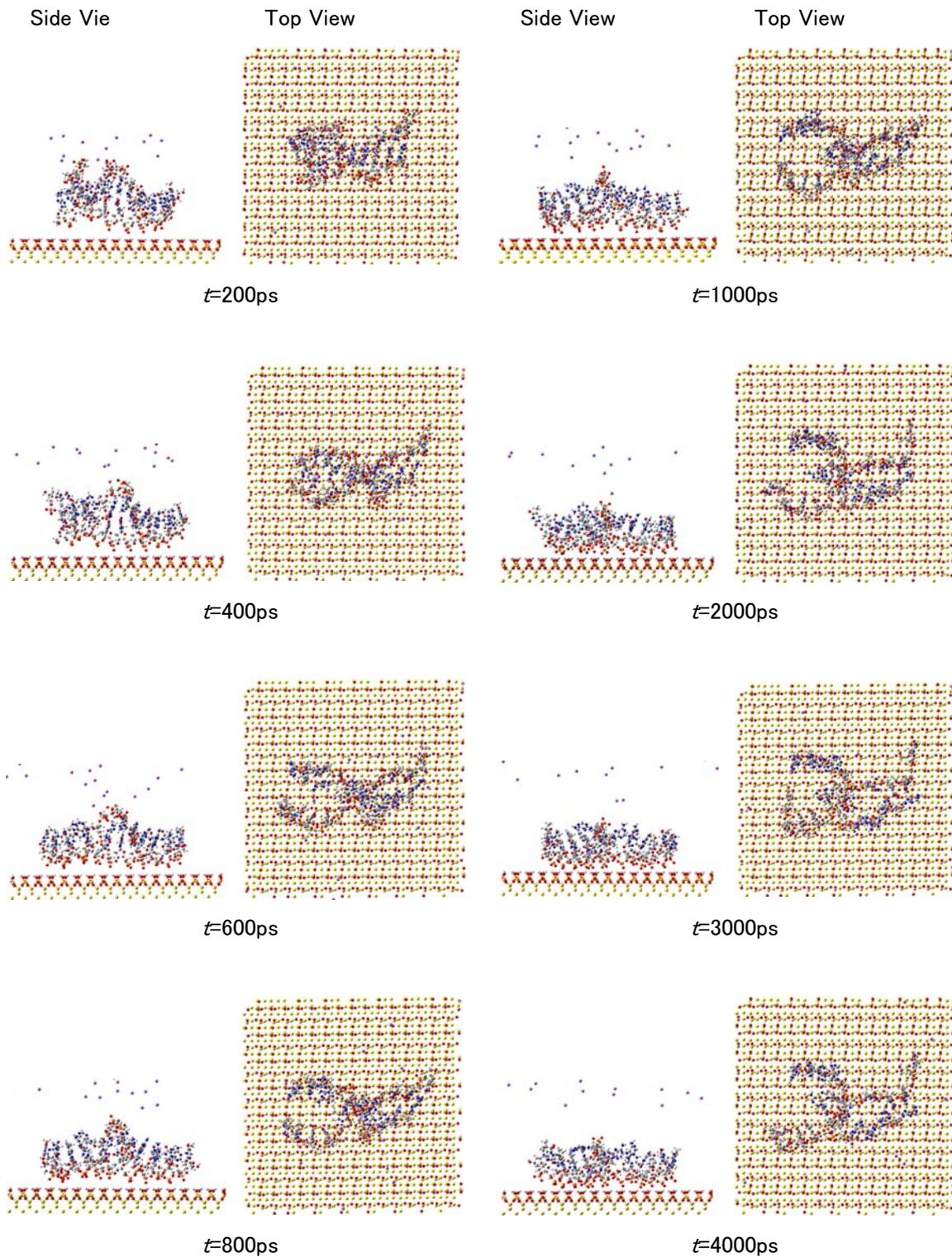


図6 SiO<sub>2</sub>基板近傍における10bp poly(dA)·poly(dT) DNAの流動と固着の分子動力学シミュレーション

荷電高分子として、ここではDNAを考える。これをBead-Spring (BSモデル)によって粗視化して記述し、周期的に電極を配置した流路内での運動をシミュレーションする。ビーズの総数を $N$ とし、それぞれ $-|q_{net}|$ の電荷を持つとする。ビーズを連結するバネは、距離を $r$ として、ポテンシャル

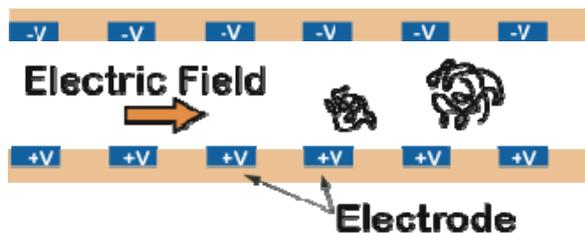


図7 提案する DNA 分離デバイスの模式図

$V^{\text{sp}} = kr^2/2$  で表される線形バネとし、全てのビーズ間には、 $r < \sigma$  で働くLennard-Jones型の斥力を仮定する。ここでバネ定数 $k$ は、交差した鎖がすり抜けられないようにするため、 $k = 100k_B T$ と十分大きく選んだ。 $k_B$ はボルツマン定数である。ビーズ間の平均距離は、およそ $\approx 0.84\sigma$ となる。

位置 $r_i$ にある番目のビーズの運動は、次の力の釣り合いの方程式

$$\mathbf{F}_i^{\text{drag}} + \mathbf{F}_i^{\text{rand}} + \mathbf{F}_i^{\text{el}} + \mathbf{F}_i^{\text{int}} = 0$$

で記述される。まず $\mathbf{F}_i^{\text{drag}}$ は、ビーズの速度に比例する摩擦抵抗で、その係数を $\zeta$ とし $\mathbf{F}_i^{\text{drag}} = -\zeta \dot{\mathbf{r}}_i$ と表す。 $\mathbf{F}_i^{\text{rand}}$ はランダム力、 $\mathbf{F}_i^{\text{el}} = -q\nabla\phi$ はビーズが電場から受ける力である。最後の項 $\mathbf{F}_i^{\text{int}}$ は、ビーズ間斥力とバネによる力を表す。計算では $\sigma (=1)$ を100nmとした。また、簡単の為に、壁とビーズの間には、ビーズ間相互作用と同じ形のLennard-Jones型の斥力が働くことと仮定した。電場 $-\nabla\phi$ は境界要素法を用いて求め、時間発展は2次のStochastic Runge-Kuttaアルゴリズムによって計算した。

流路のサイズを $(L_x, L_y, L_z) = (60, 20, 20)$ の矩形とし、底面に流路の幅と同じ長さの正方形の電極を周期的に配置する(間隔は電極幅の3倍とした)。流れ方向に静的な一様電場 $E_0 = k_B T / l |q_{net}|$ を与え、極板間に電圧 $V$ を印加したときの、BS鎖の運動と流れ方向の移動度に注目して、シミュレーションを行った。図8に $V/E_0 \neq 1.15$ としたときの、ビーズの数と移動度の関係を示した。長さが短いと、鎖は電極に拘束されたままであるが、 $N$ が或る値を超えたところで、移動度は急に増加し、一定値へ近づく。BS鎖が引き剥がされる「きっかけ」は熱振動によって作られるので、移動度はビーズの数 $N$ ( $\leftrightarrow$ DNAの長さ)に依存してくる。一方、電圧の上昇とともに、移動度は単調に減少し、ある所で0になる振る舞いが得られる(図9)。すなわち、電極に印加する電圧の値を変えることで、移動度が上昇を始めるDNA長さを容易に変化させることができる。

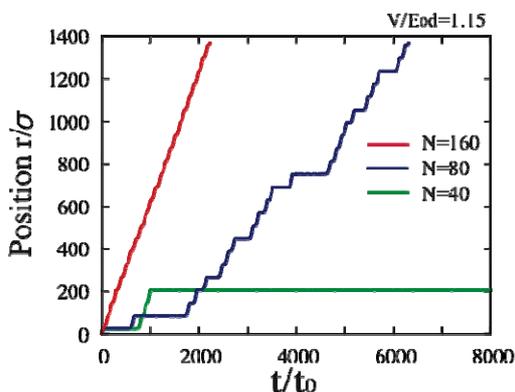


図8 DNA 流動様式の長さによる変化

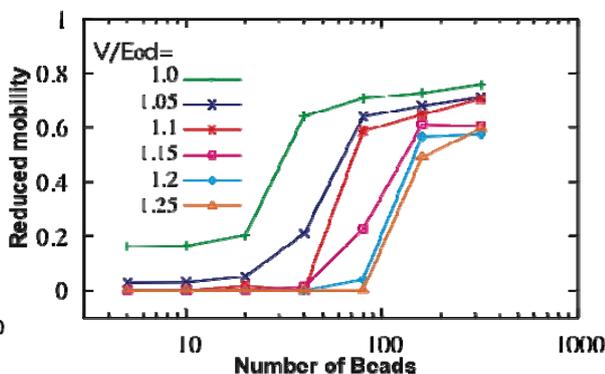


図9 印加電圧とDNA 移動度の関係

## 5 自己評価

DNA を導電性ナノ材料として捉え、その自己集合化現象を利用した固体基板上でのネットワーク形成とその性状解析、ポーラロンモデルによる導電性解析、量子化学計算と分子動力学シミュレーションを融合したマルチスケールマルチフィジックス解析を行った。実験、理論およびシミュレーションの最新技術を積極的に導入し、複眼的視野から DNA ナノデバイス創製に向けた解析技術の開発を目指した。

さきがけ研究採択の好機を捉え、分子流・プラズマ流体力学の研究分野から、バイオナノテクノロジー分野へ新たな展開を期した次第であるが、原子集団が固有の機能を有するという深い学術的興味を持ち続けることができた一方で、生体高分子における機能発現やシステムの複雑さに起因して、定量化の困難さや構築した理論・シミュレーションモデルの未成熟さに悩まされるが多かった。

そこで、原子間力顕微鏡、Gaussian および AMBER など、市販の装置およびソフトウェアを援用し、新たな分野での研究手法の基礎を学び、DNA ナノデバイス創製に必要な不可欠な学術データの蓄積に注力した。ただし、既製品の活用のみ依存した研究遂行体制を断固としてとらず、独自技術の構築や新概念の提案を常に心がけた。研究は全て実験等との対比による妥当性の検証に重点を置きながら多角的に行ったが、主用部分のアプローチ手法に応じて、実験、理論、シミュレーション研究に分類し、これらの自己評価を記述する。

実験的研究では、マイカ基板、シリコン系基板、カーボン系基板を用い、好適な実験条件を見出すとともに、水中での基板原子と DNA 構成原子の相互作用に注目して、基板に固着した DNA ネットワークの性状定量化手法を提案した。DNA ネットワーク性状はボックスカウンティング法に基づくフラクタル次元解析を用いて行うこととし、原子間力顕微鏡から得られた3次元画像を読み込み、検査体積を大きく変化させてフラクタル次元を導くプログラムを開発した。その後、現時点では、概念的な物理学的研究の域を脱していないが、チューリングの反応拡散波により、DNA ネットワーク性状の模擬が可能であることを見出した。ナノの世界における生体高分子の自己集合化現象をこのような流体力学的な場の理論によって考察可能であることは驚きであり、動物の皮膚や自然界の渦等におけるパターン形成に関連して、知的好奇心が大いに刺激された。

理論的研究では、ポーラロンモデルによる DNA の導電性解析、電子衝突による直接および間接的 DNA 損傷の解析を行った。シュレーディンガー方程式と分子動力学法のカップリング、電子衝突理論等に基づいて、独自の物理モデルの提案、解析プログラムの開発、過去の実験結果との比較によるモデルおよびシミュレーション技法の検証を行った。DNA ネットワーク導電性解析を原子間力顕微鏡で行う装置を導入したが、電極と DNA とのインターフェース部分の構築や DNA 表面に残留した水分子の影響を取り除くことが困難で、現在も実験は難航している。そこで、実験と並行して、ポーラロン解析を行い、その定性的特長をつかむことにも注力した次第である。特に、DNA 分子の周囲にある水分子の熱振動を効果的にモデリングして、周囲液体の温度がポーラロン伝導に及ぼす影響を明らかにした。電子衝突による DNA 損傷の研究では、2005 年、日本シミュレーション学会から論文賞が授与された。

シミュレーション研究では、広く知られている AMBER 力場を改良し、生体高分子の大変形や高温条件にも対応した力場ポテンシャルを提案し、並列化 MD シミュレーションにおいて、その有用性を確認している。生体高分子と無機基板との干渉を的確に取り扱える市販ソフトは少なく、この点に独自性と将来性を見出した国内企業2社との共同研究を進めた。派生関連技術として、プラズマディスプレイおよびリチウムイオン二次電池の荷電粒子シミュレーションによる数値設計手法を確立し、的確な物理モデル構築のみでなく、アルゴリズムや数値スキームの開発においてその高速化や安定化が可能になった。国内企業の研究顧問に就任して、これら製品の量産化と普及にも貢献できた。米国で 2004 年にコンピュータシミュレーション技術に関する国際会議 (5th International Symposium on COMPUTATIONAL TECHNOLOGY FOR FLUID / THERMAL / CHEMICAL / STRESSED SYSTEMS WITH INDUSTRIAL APPLICATIONS / San Diego (La Jolla), California, USA) を主催し、工学分野でのシミュレーション技術で、世界を先導することもできたと考えている。さがけ領域会議における異分野のシミュレーション研究者との交流は大変良い刺激になり、特に量子化学の大規模計算手法を取り入れていくことの重要性、既存の分子動力学シミュレーションを生体高分子に適用する際の問題点が明確になった。今後の研究課題として、生体高分子における表面電荷の時間変化を考慮したシミュレーション技法、原子間距離の拘束技法、水和構造をよりの確に表現できる溶媒モデルの開発を行いたいと考えている。これらは生体高分子の機能をより精密に捉えるため、そして、計算時間の簡略化と精度の確保を行うためである。一方、DNA の粗視化モデルを用いた流動シミュレーションを行い、ランジュバン方程式とマクスウェル方程式のカップリング技術を確立した。その結果、マイクロ流路と微小電極を用いて、DNA の分離を高速・安価に行うことが可能であることを示唆した。これは各種の医療検査チップや、miRNA の分離にも適応することができるので、新たな生体デバイス創製手法として非常に有用であると考えている。

さがけ研究に関し、多大なる貢献と助力のあった博士研究員と博士課程大学院生がアカデミックポジションの常勤職を得ることができ、また、博士課程に進学した大学院生二名が学術振興会特別研究員(DC)に採用された。新分野進出に伴い、上記の協力者には、ゼロからのスタート、暗中模索の辛い研究生活を強いてしまったが、結果として、協力者全員が適切な社会的外部評価を得たことは非常に大きな喜びであった。今後、学術振興会特別研究員(PD)の外部からの受入と新たな企業との共同研究契約も予定している。また、さがけ研究期間中、報告者自身もテニユアの教授職を得ることができ、当該研究のさらなる発展と後進の育成を期すとともに、学術の深化と直接的な社会貢献を目指すのに十分な環境が整いつつあると実感している。

## 6 研究総括の見解:

川野研究者は、DNA の自己集合化機能を有効に利用したナノデバイス製造法について、最適設計手法の確立を目指した研究開発を理論ならびに実験の両面から行った。シミュレーション研究では、広く知られている AMBER 力場を改良し、生体高分子の大変形や高温条件にも対応した力場ポテンシャルを提案し、並列化 MD シミュレーションにおいて、その有用性を確認したことを評価する。また、DNA の粗視化モデルを用いた流動シミュレーションではマイクロ流路と微小電極を

用いて、DNA の分離を高速・安価に行うことが可能であることを示している。

今回のさきがけ研究を基に実用に供する DNA ナノデバイス設計法の開発を進展させ、分子流体力工学を基盤とした各種融合的研究への展開を期待する。

## 7 主な論文等:

### 論文 (16 件)

Naoto SHIMIZU, Satoyuki KAWANO, and Masanori TACHIKAWA

Electron Correlated and Density Functional Studies on Hydrogen-Bonded Proton Transfer in Adenine-Thymine Base Pair of DNA

J. Molecular Structure, Vol. 735-736 (2005), pp. 243-248.

Satoyuki KAWANO

Fractal Dimension Analysis in Self-Assembled Poly(dA)·Poly(dT) DNA Network on Mica Surface

JSME. Int. J., Ser. B., Vol. 48(2005), pp. 191-195.

Youhei MARUYAMA, Masanori TACHIKAWA, and Satoyuki KAWANO

*Ab Initio* Study of DNA Double-Strand Breaks by Hydroxyl Radical

JSME. Int. J., Ser. B., Vol. 48(2005), pp. 196-201.

Satoyuki KAWANO and Youhei MARUYAMA

Mathematical Model for Polaronic Effects of Charge Transport in DNA

JSME. Int. J., Ser. B, Vol. 48(2005), pp. 456-463.

Shin-ichiro NAGAIRO, Satoyuki KAWANO, and Hidetoshi KOTERA

Separation of Long DNA Chains Using a Nonuniform Electric Field: A Numerical Study

Phys. Rev. E., Vol. 75(2007), pp. (011902-1)-(011902-5).

### 特許 (0 件)

### 受賞 (1 件)

川野聡恭, 丸山洋平

電子衝突による DNA らせん崩壊の量子力学的アプローチ

シミュレーション、第 23 巻, 第 1 号(2004), pp.36-41.

日本シミュレーション学会、論文賞

2005 年

招待講演 (8 件)

川野聡恭

DNA ナノデバイス創製におけるシミュレーション技術

CAE 懇話会、第 2 回関東 CAE 懇話会

東京、2003 年 12 月.

川野聡恭

バイオ・ナノ流動ダイナミクスの数理と応用

早稲田大学理工学部

東京、2004 年 4 月.

Satoyuki KAWANO

Flow Dynamics toward Medical and Welfare Issues

International Symposium on Perspective on Flow Dynamics for 21st Century Critical Issues

Sendai, November 2004.

川野聡恭

日本機械学会関西支部流体力学懇話会

マルチスケール・マルチフィジックス CFD による電子デバイスの数値設計(事例紹介:プラズマディスプレイ、リチウムイオン二次電池、DNA ナノデバイス)

大阪、2006 年 1 月.

川野聡恭

DNA ナノデバイス創製におけるシミュレーション技術

大阪大学蛋白質研究所セミナー「ケミカルバイオロジーの進展と生命科学研究の新たな展開」

大阪、2006 年 11 月.

他の参考事項

解説論文等 7 件

英文書籍(編集) 4 件

著書(分担執筆) 2 件

国際会議の主催(共同) 1 件

国内会議の主催(オーガナイザ) 4 件