

「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」

大阪大学 大学院基礎工学研究科 機能創成専攻 機能デザイン領域 川野聡恭

1 研究概要

フォトリソグラフィ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 π 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。本研究グループでは、DNAの自己組織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不可欠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捉え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している。すなわち、本研究は、分子流体工学を基盤として、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、実用に供するナノデバイス設計法の開発を目指す。

2 研究実施内容

(1) 大変形を伴うDNAの分子動力学シミュレーション

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
—バイオ・ナノ流動ダイナミクスの数理と応用—
化学工業, Vol 56, No 7(2005), pp69-73 に掲載

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。

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

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SiO₂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1に示す。明瞭な可視化のため、周囲のH₂O分子は描画していない。図1

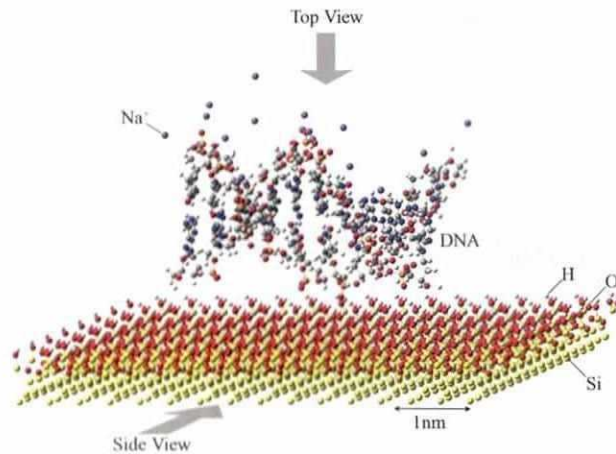


図1 コンピュータシミュレーションの初期条件(水分子を除く)

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2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SiO₂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157nmであり、SiO₂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。

(2) 粗視化モデルによるDNA分離デバイスの考案

Shin-ichiro NAGAIRO, Satoyuki KAWANO, and Hidetoshi KOTERA

Separation of Long DNA Chains Using A Nonuniform Electric Field: A Numerical Study
Physical Review E, に掲載予定

電気泳動による荷電高分子の分離は、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。特にDNAの電気泳動法は応用上重要であり、その効率化を目指して様々な研究が行われてきた。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。一方、最近になって、電気泳動の手続きを一枚の微小チップ上で実現する事が可能になって来た[μ -TAS (Micro Total Analysis System)]。これに伴って、上記の欠点を克服した、ゲルを用いない電気泳動法が提案されている。一つは、荷電高分子が移動する流路の側壁に μm サイズの障害物を周期的に配置する方法である。流路に電場が印加されると、高分子は障害物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。これに対し我々は、微小な電極を周期的に配置した流路を考えた(図3)。電極から生じる電場が、移動する高分子を拘束するので、流路



図2 SiO₂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

内に微細構造を配置する事と同じ効果が期待できる。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と、それに対する簡単な理論的考察を紹介する。

Bead-Spring (BS) モデル

荷電高分子として、ここではDNAを考える。これを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(図4)。

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 $V^p = kr^2/2$ 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。ここでバネ定数は、交差した鎖がすり抜けないようにするため、 $k=100k_B T$ と十分大きく選んだ。ビーズ間の平均距離は、およそ $l=0.84\sigma$ となる。

位置 r_i にある i 番目のビーズの運動は、次の力の釣り合いの方程式

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

で記述される。まず \mathbf{F}_i^{drag} は、ビーズの速度に比例する摩擦抵抗で、その係数を ζ とし $\mathbf{F}_i^{drag} = -\zeta\dot{\mathbf{r}}_i$ と表す。ここでは流れはないと仮定し、ビーズ間の流体力学的相互作用も無視している。 \mathbf{F}_i^{rand} はランダム力、 $\mathbf{F}_i^{el} = -q\nabla\phi$ はビーズが電場から受ける力である。最後の項 \mathbf{F}_i^{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。

電気泳動シミュレーション

流路のサイズを $(L_x, L_y, L_z) = (60, 20, 20)$ の矩形とし、 $z=0, L_z$ に流路の幅と同じ長さの正方形の電極を配置する($L_z=d$)。 x 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 x 方向の移動度に注目して、シミュレーションを行った(x 軸方向には周期境界をとった)。図5に $V/E_0 d = 1.15$ 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

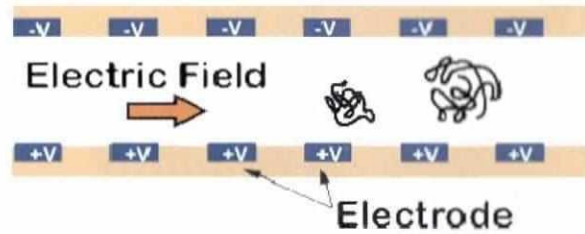


図3 提案する高分子分離デバイスの模式図

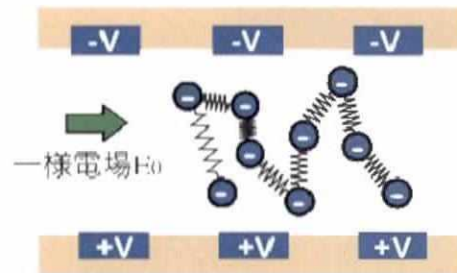


図4 BSモデル

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。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ビーズの数 N^* を変化させることができる。図6に示した例では、 V/E_0d を10%大きくしただけで、 N^* は2倍近く変化している。この振る舞いは、電気泳動法への応用上重要であるが、シミュレーションから、 N^* の値は電圧に非常に敏感であることが示唆された。

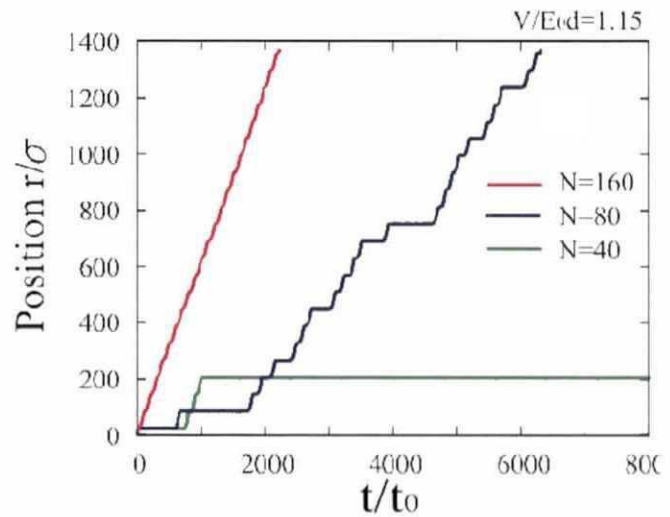


図5 DNA流動様式の変化

3 主な研究成果

(1) 論文発表

- 1 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) ,pp36-41
- 2 川野聡恭, 志賀智行
生体高分子の大変形を考慮した拘束系MDシミュレーション手法の開発
シミュレーション, 第23巻, 第1号 (2004) ,pp42-47
- 3 M Kampp, S Kawano, PJP Roche, J Rasch, DH Madison, HRJ Walters CT Whelan
On the Observation of the Fine Structure Effect in Non-Relativistic ($e, 2e$) Processes
Eur Phys J, D, Vol29(2004), pp17-19
- 4 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
- 5 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

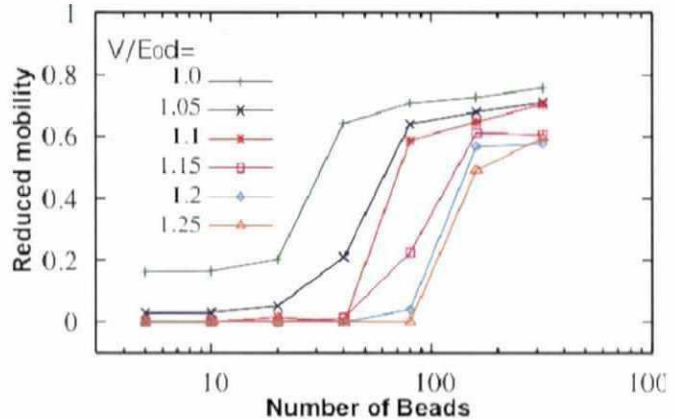


図6 印加電圧と移動度の関係

- 6 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
- 7 Satoyuki KAWANO and Futoshi NISHIMURA
Numerical Analysis of Discharge Characteristics in Lithium Ion Batteries
Using Multiphase Fluids Model
Jpn J Appl Phys, Vol 44, No 6A(2005), pp 4218-4228
- 8 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
- 9 Satoyuki KAWANO and Takashi MISAKA
Numerical Study on Microdischarges in Plasma Display Panels with Arbitrary Cell
Geometry
J Appl Phys, Vol 98(2005), pp (053302-1)-(053302-14)
- 10 Shin-ichiro NAGAIRO, Satoyuki KAWANO, and Hidetoshi KOTERA
Separation of Long DNA Chains Using A Nonuniform Electric Field: A Numerical Study
Physical Review E, in press

(2) 口頭発表

- 1 Satoyuki KAWANO
Fractal Dimension Analysis in Self-assembled Poly(dA)•Poly(dT) DNA Network on Mica
Surface
Proceedings of The Fourth International Symposium on Advanced Fluid Information and
The First International Symposium on Transdisciplinary Fluid Integration, Sendai, Japan,
(2004), pp38-39
- 2 Youhei MARUYAMA, Masanori TACHIKAWA, Satoyuki KAWANO
Ab Initio Study of DNA Double Strand Breaks by Hydroxyl Radical
Proceedings of The Fourth International Symposium on Advanced Fluid Information and
The First International Symposium on Transdisciplinary Fluid Integration, Sendai, Japan,
(2004), pp40-41
- 3 Takashi MISAKA, Satoyuki KAWANO
Computer Simulation and Visualization of Oxygen Plasma for Bioprocesses
The 5th International Symposium on Future Medical Engineering based on
Bio-nanotechnology, NanoScience and Technology for Medical Applications, Sendai,
Japan, (2005), pp 54-55

- 4 Youhei MARUYAMA, Masanori TACHIKAWA, Satoyuki KAWANO
Ab initio study on interaction between DNA and hydroxyl radical based on Hartree-Fock method
The 5th International Symposium on Future Medical Engineering based on Bio-nanotechnology, NanoScience and Technology for Medical Applications, Sendai, Japan, (2005), pp 56-57

- 5 Satoyuki KAWANO, Mayumi HAGA, Katsuhiko NISHIYAMA, Takanobu WATANABE, Tyuji HOSHINO, Iwao ODOMARI
Computer Simulation of Poly(dA) · Poly(dT) DNA Approaching SiO₂ Substrate in Aqueous Solution
The 5th International Symposium on Future Medical Engineering based on Bio-nanotechnology, NanoScience and Technology for Medical Applications, Sendai, Japan, (2005), pp 58-59

- 6 Satoyuki KAWANO, Kozue KAWAHARA
AFM observation of 50bp poly (dA) · poly (dT) DNA network characteristics adhered on mica surface
The 5th International Symposium on Future Medical Engineering based on Bio-nanotechnology, NanoScience and Technology for Medical Applications, Sendai, Japan, (2005), pp 60-61

- 7 Satoyuki KAWANO, Takashi MISAKA
Numerical study on oxygen micro-discharge plasmas for bioprocess
The Sixth KSME-JSME Thermal and Fluids Engineering Conference, Jeju, Korea, (2005), KD02 (CD-ROM)

- 8 Hirofumi SHINTAKU, Satoyuki KAWANO, Takaaki SUZUKI, Isaku KANNO and Hidetoshi KOTERA
Theoretical Analysis of Atomization Phenomena in Microchannel
The First International Conference on Complex Medical Engineering-CME2005, Takamatsu, Japan, (2005), pp 99-102

- 9 Hirofumi SHINTAKU, Takeo KUWABARA, Takaaki SUZUKI, Isaku KANNO, Hidetoshi KOTERA, and Satoyuki KAWANO
Encapsulation of Living Cells into a Micro-Gel-Bead Using Microfluidic Device
The 2nd International Symposium on Micro & Nano Technology, Hsinchu, Taiwan, (2006), pp 189-192

- 10 Hirofumi SHINTAKU, Takeo KUWABARA, Takaaki SUZUKI, Isaku KANNO, Hidetoshi KOTERA, and Satoyuki KAWANO
Tissue Encapsulation with Thin Hydrogel Membrane using Micro-Emulsification System
2006 Joint Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment (MIPE 2006), Santa Clara, CA, USA, (2006), S11-04