A6

# DNAのナノ領域ダイナミクスの第一原理的解析

神戸大学大学院　自然科学研究科　○田中　成典

Ab Initio Approach to Nanoscale Dynamics of DNA

Shigenori Tanaka, Kobe University

Abstract:
We have developed the methodologies for analyzing the electronic states and stable structures of DNA systems from first principles on the basis of computational tools such as fragment molecular orbital and charge equilibration methods. We have thus analyzed the electron transfer or transport properties of DNA which have recently attracted considerable attention in the context of environmental biology and nanotechnology. In addition, we have attempted the elucidation of the mechanism of transcriptional regulation in which the specific molecular recognition between DNA and proteins plays a vital role.

## 1. はじめに

近年のサイエンス＆テクノロジーの展開において、ナノ、バイオ、ITの３つがキーワードとしてしばしば取り上げられるが、本プロジェクトはその背景としてこの３点と密接に関わっている。まず、ヒトゲノム計画に代表されるバイオインフォマティクスの急速な進展によってインシリコでの生命現象の記述や再構築が我々の射程に入ってきたが、その最も基礎の部分にあるのが蛋白質や核酸などの生体高分子の構造と機能の計算機シミュレーションである。そこでは巨大な分子複合系のダイナミカルな相互作用の解析が求められ、その主要な場はいわゆるナノ領域で、これはデバイス開発におけるトップダウン的なアプローチとボトムアップ的なアプローチの融合領域として近年ナノテクノロジーが脚光を浴びていることと軌を一にしている。そして、計算科学ならびに分子シミュレーション技術の進展が、我々がこのような生体高分子の第一原理的な解析を行うことを可能にした。本プロジェクトではこういった時代背景を踏まえ、特に対象をDNAにフォーカスして、転写制御機構の解明を念頭に置いたDNA－蛋白質複合系の特異的相互作用解析と分子エレクトロニクス応用を念頭に置いたDNAの長距離電荷移動反応の解析を行うことを目指し、そのための第一原理的分子シミュレーション技術の開発とその適用による有効性の検証を目的とした。

## 2. 研究開発項目とその成果概要

### 2. 1 生体高分子の構造と機能を解析するための第一原理的計算手法の開発

本プロジェクトでは、生体高分子系の計算化学的解析を行う基本的な道具立てとして、主に、大規模分子系の第一原理電子状態計算を行うためのフラグメント分子軌道（FMO）法と電荷移動や分極を定量的かつ簡便に記述するための半古典的な電荷平衡（QEq）法の開発を進めた。FMO法に関しては、（１）分割したフラグメントに対する計算から系全体の分子軌道（MO）を定義・再構築する方法の確立ならびに精度検証、（２）用いられる基底関数系の拡張、（３）自己無撞着計算収束の高速化、（４）密度汎関数（DFT）法の導入と有効性・精度のチェック、（５）DNA系への適用手法の確立と計算精度の検討、（６）

DNA－蛋白質間の相互作用を解析するためのフラグメント間相互作用解析手法ならびにその表示ソフトウェアの開発、などの点で進展があった。一方、QEq法に関しては、CQEq、MQEqなどの各種手法の開発と核酸、アミノ酸等の分子への具体的適用ならびにパラメータの高精度化などの点で進展があった。そして、FMO、QEq法ともに、それらを用いた分子動力学（MD）計算への展開を進め、比較的小さなペプチド・蛋白質系でのテスト計算を行って良好な結果を得た。

## 2. 2 転写制御機序の解明を目指したDNA－蛋白質複合系の分子認識機構の解析

DNAに書き込まれた遺伝情報を転写・翻訳して蛋白質を作り出す過程は生命の神秘を解き明かす上で最も重要な反応の一つであるが､その詳細な分子メカニズムの解明は未だ我々の理解を超えた部分が多い。中でも、その初期過程において、なぜ特定の転写制御蛋白質がDNA上の適切な場所を認識して転写を開始できるのか、その特異的な分子認識機構は未解明のままである。我々は、蛋白質とDNAとがどのようにしてお互いの塩基あるいは残基配列を認識しあって特異的に結合するのかを明らかにするために、できるだけ第一原理に基づいた分子シミュレーションによる解析を試みた。プロトタイプとして用いた系は、大腸菌におけるcAMP受容体蛋白質（CRP)、同じく大腸菌のラクトース・リプレッサー、そしてヒトのエストロゲン受容体（ER）とそれらのリガンド分子ならびにDNAとの結合系である。図１に、ERのDNA結合ドメイン（ダイマー）とDNAとの複合体の構造を示す。３つの系に共通するアプローチとして、まずProtein Data Bankに登録された結晶構造から出発し、その周囲に水分子とカウンターイオンを発生させて分子力場（原子間ポテンシャル）を用いた古典力学的な分子力学あるいはMD計算を行ってエネルギー極小の構造を求めた。次にそれらのスナップショットを用いて、FMO計算を行い、各フラグメント間の相互作用エネルギーならびにトータルの結合エネルギーを評価した。さらに、蛋白質のアミノ酸残基、DNAの塩基、またリガンド分子の種類を変異させて結合エネルギーの変化を求め、実験結果と比較した。いくつかの例外はあるが､このようにして得られた我々の計算結果は実験結果を概ね良く再現する。また、フラグメント間相互作用解析によって、蛋白質やDNAの残基あるいは塩基配列におけるどの部分が系全体の結合をコントロールしているのかの定量的知見が得られ、配列に依存した特異的分子認識メカニズムに関する洞察や結合特性を変化させるための分子設計や予測なども可能となった。第一原理的な計算によってこれらの解析プロトコルを確立することは、構造ベースの合理的創薬や遺伝情報の差（SNPs）による疾患および薬剤応答性の個人差などを理解する上での基礎となるものである。さらに、電子状態の変化を考慮に入れた量子力学的な解析を実行することによって、分子界面での電荷の移動や分子内での電子分極など、古典力学的な計算では記述が困難な効果が生体系の分子認識においては重要な働きを演じている場合が少なからずあることが判明した。

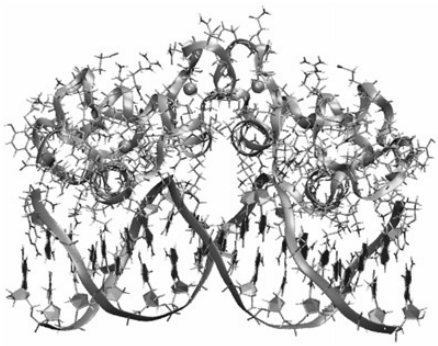

図1　ERダイマーとDNAの複合体

## 2. 3 DNAにおける長距離電荷移動機構の解析

DNAにおける長距離電子移動は、元々は遺伝子損傷や修復といった生物学的な興味から研究が開始されたが、塩基配列や化学的修飾あるいは周囲の環境をデザインすることで絶縁体から金属的に至る広範な電気伝導特性の制御ができ、また塩基の相補性や自己組織化機能を利用した構造制御や複製が比較的容易にできることもあって、近年ナノテクノロジーの分野でも、例えば分子エレクトロニクスやバイオチップ

への応用に向けて大きな注目を集めている。ここ数年、世界的に精力的な研究が進められたこともあって、基本的な電荷移動メカニズムに関してはかなり理解が進んだが、高機能の分子デバイスを設計するための定量的な理論解析を行う上ではまだ克服すべき課題も多い。我々は、MO法とMD法、さらにはナノスケールでの分子ダイナミクスを記述するための有効粗視化理論等に基づき、DNAにおける電子移動・電気伝導に関して現在問題となっているいくつかの重要な問題の解明に取り組んだ。以下、その例を挙げる。

（1）水溶液中のDNAヘアピンの光誘起ホール移動反応速度のエネルギーギャップ依存性を原子核の量子効果を考慮してMD法に基づき解析し、実験で得られた振舞いを適切に再現した。

（2）２本鎖DNAに比べて１本鎖DNAにおける電気伝導度が大幅に低下することが知られている。水溶液中での両者の安定構造をMD法により求め、電子状態計算によって各塩基のエネルギーレベルとその間の電子的結合定数を評価して有効ハミルトニアンを構築し、グリーン関数法で電子あるいはホールの透過係数と電流ー電圧特性を評価して、実際に１本鎖のほうが大きな構造変化を生じ、そのことが電気伝導の阻害要因となっていることを示した。

（3）電気化学的DNAチップでは塩基ミスマッチの存在により電気伝導性や電荷移動の低下が起きることが実験的に示唆されている。まず、塩基間の電子的結合と溶媒分子との結合を考慮に入れた有効ハミルトニアンを用いて、ミスマッチ近傍の電子的結合定数の減少が電子移動速度定数の大幅な低下を招くことをモデル計算により示した。次に、（2）と同様の方法により、水溶液中の構造決定と電子状態計算を行って有効ハミルトニアンを求め、実際にミスマッチのある場合のほうがない場合に比べて電荷の透過係数や電流が低下することを実験に即して定量的に示した。

（4）DNA鎖において適当な条件下でホールが比較的長距離を効率的に輸送されることが知られているが、これを用いて分子ワイヤーをデザインしようとする際、主にグアニン（G）サイトでトラップされたホールによってDNA鎖が酸化分解を受けやすいという問題点がある。この問題を克服する一つの対応策として、Gの代わりにフェニル化されたGをDNA鎖に導入することで酸化分解を大幅に抑制できることが実験により示されている。この実験結果を説明するためにMO法による電子状態計算と化学反応の速度論的解析を行い、溶媒効果によってフェニルグアニンがホールの新たなトラップサイトになることが酸化分解の抑制に有効に働くことを定量的に示した。

（5）通常のDNAでは鎖長が長くなるほどその電荷移動効率は減少するが、最近、DNAの化学修飾により電荷移動効率が非常に高くなり、さらに場合によってはその効率がDNAが長くなるほどむしろ上昇することがあることが実験的に示された。電子の波動関数の広がりによるエネルギーレベルの安定化を考慮することで、この奇妙な現象を説明しうる理論を開発し、実際に実験結果を定量的に説明した。

## 3. ネットワークの活用について

本プロジェクトでは、参画した５つの研究機関ならびに世界各地に点在する研究協力者の間でネットワーク（SINETなど）ならびに電子メールでデータと意見の交換を行いながら、計算化学の道具立ての開発から応用計算までのスルーする具体的な試みをいくつか行った。例えば、転写制御に関わる蛋白質ーDNA系の相互作用解析に関しては、産業技術総合研究所あるいはスウェーデンのカロリンスカ研究所でまず水溶液中のMD計算を行って多数の分子配置を作り出し、それを高速ネットワークを通じてMO計算グループに転送して電子状態計算を実行し、その結果をグラフィクス表示して共同研究者間で閲覧して議論を進める、といった作業を行った。DNA電子移動の解析に関しても、初期構造の作成から安定構造の決定、電子状態計算、そして有効ハミルトニアンによる速度論的解析に至る一連の作業を世界各地で分担

して行う試みを実行し、インターネット時代の新たな共同研究の形態を模索した。

## 4. まとめ

本プロジェクトの遂行を通じて、DNAの関わる現実的な対象系を計算化学の手法により第一原理的な立場から人的ならびに計算機ネットワークを活用して協同的に解析するという先駆的な試みを世界に先んじて実行した。なお、本プロジェクトに関わる総説として、「DNA鎖の第一原理計算の現状と将来」（表面科学 Vol. 24, No. 11, pp. 664-670, 2003）を執筆した。

## 5. 研究開発実施体制

代表研究者　神戸大学大学院　自然科学研究科　田中　成典

研究分担

（1）研究開発題目：分子動力学法の開発及び生体分子系機能発現ダイナミクスの解析

研究開発項目：DNA複合系のダイナミクス解析及び研究開発全体の統括

神戸大学大学院　自然科学研究科　　田中　成典

（2）研究開発題目：高速分子軌道法の開発

研究開発項目：高速分子軌道法の超並列化

国立医薬品食品衛生研究所　化学物質情報部　　中野　達也

研究開発項目：高速分子軌道法を用いた生体分子系の解析

JST研究員　　青木　孝造

（3）研究開発題目：高速分子軌道法及び分子動力学法の開発

研究開発項目：高精度かつ高速な分子軌道法の開発と大規模系での有効性の検証

産業技術総合研究所　グリッド研究センター　　長嶋　雲兵

研究開発項目：高速・高精度分子軌道法及び分子動力学法の開発と応用

JST研究員　　渡邊　寿雄

（4）研究開発題目：高精度分子軌道法及び分子動力学法の開発と生体分子系への応用

研究開発項目：高精度分子軌道法の開発及び生体分子系への応用

豊橋科学技術大学　知識情報工学系　　栗田　典之

研究開発項目：分子動力学法の開発及び生体分子系のダイナミクス解析

豊橋科学技術大学　知識情報工学系　　関野　秀男

研究開発項目：生体分子複合系の配座解析手法の開発

豊橋科学技術大学　知識情報工学系　　後藤　仁志

研究開発項目：大規模分子動力学計算のための力場の開発と生体分子系への適用

JST研究員　　小川　哲司

研究開発項目：高速高精度分子軌道法の開発と生体分子系への適用

JST研究員　　杉木　真一郎

（5）研究開発題目：生体分子系の励起ダイナミクス理論の構築

研究開発項目：DNAにおける電荷移動ダイナミクスの解析

筑波大学　物質工学系　　岡田　朗

研究開発項目：DNAにおける電荷移動ダイナミクスの解析

JST研究員　　横島　智

研究協力者

東芝研究開発センター　宮崎　和典
カリフォルニア工科大学　Rudolph A. Marcus
ベルリン自由大学　Thomas Renger
ブロック大学　Stuart M. Rothstein
カロリンスカ研究所　Lennart Nilsson、Jewgeni Starikow
ミュンヘン工科大学　Alexander Voityuk
アムステルダム自由大学　Nico P.E. Vermeulen、K. Anton Feenstra
デューク大学　David N. Beratan
マウントシナイ薬科大学　Roman Osman
京都大学　中谷　和彦
放射線医学総合研究所　山口　寛
横浜市立大学　立川　仁典
富士総合研究所　福澤　薫、樋口　高年
産業技術総合研究所　北浦　和夫、古明地　勇人
広島大学　神沼　二眞
プエルトリコ大学　Yasuyuki Ishikawa
オークリッジ国立研究所　Robert J. Harrison
スタンフォード大学　Vijay S. Pande、Jean-Claude Latombe
パシフィックノースウェスト研究所　So Hirata、Theresa L. Windus、Edoardo Apra
筑波大学　鈴木　修吾
フリーランス　井口　和基
カリフォルニア大学サンフランシスコ校　Ken A. Dill
カリフォルニア大学サンディエゴ校　Jose N. Onuchic
カリフォルニア大学バークレー校　Adam P. Arkin