DNA 鎖の第一原理計算の現状と将来

田中成典・福澤 薫*・中野達也**・栗田典之***

(株) 東芝研究開発センター新機能材料・デバイスラボラトリー 📼 212 8582 神奈川県川崎市幸区小向東芝町 1 *(株)富士総合研究所計算科学技術研究センター 西101 8443 東京都千代田区神田錦町23 **国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第1室 🐨 158 8501 東京都世田谷区上用賀1 18 1 ***豊橋技術科学大学知識情報工学系 〒441 8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘11

(2003年3月25日受理)

First-Principles Calculations for DNA and Related Systems

Shigenori TANAKA, Kaori FUKUZAWA*, Tatsuya NAKANO** and Noriyuki KURITA***

Advanced Materials & Devices Laboratory, Corporate R & D Center, Toshiba Corporation, 1 Komukai Toshiba-cho, Saiwai-ku, Kawasaki, Kanagawa 212 8582 *Center for Computational Science and Engineering, Fuji Research Institute Corporation, 2 3 Kanda Nishiki-cho, Chiyoda-ku, Tokyo 101 8443 **Division of Safety Information on Drug, Food and Chemicals, National Institute of Health Sciences,

1 18 1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158 8501

***Department of Knowledge-Based Information Engineering, Toyohashi University of Technology,

1 1 Hibarigaoka, Tempaku-cho, Toyohashi, Aichi 441 8580

(Received March 25, 2003)

The current status of the ab initio calculations for the electronic states, stable structures and dynamics of DNA and associated molecular systems is reviewed. Using computational tools such as the fragment molecular orbital method, the (ab initio and classical) molecular dynamics method and the charge equilibration method, we are analyzing the mechanism of transcriptional regulation in which the molecular recognition between DNA and proteins plays a vital role. In addition, we are studying the electron transfer or transport properties of DNA which have recently attracted considerable attention in the context of radiation biology and nanotechnology applications. In these problems, the interfaces among DNA, proteins, ligand molecules, solvent, counter ions and electrodes are often essential for their relevant functions. The theoretical issues remaining to be elucidated are also addressed.

1.はじめに

近年の著しい計算機の高性能化とソフトウェア技術の 進展により,蛋白質や DNA などの生体高分子の第一原 理的な電子状態計算が可能となってきた。例えば,生体 高分子の電子状態を計算する有力な手法の一つにフラグ メント分子軌道 (Fragment Molecular Orbital; FMO)法^{1~7)} があるが, Dual Pentium III 1 GHz 8 ノードの PC クラス タを用いて,約500残基の蛋白質のHartree-Fock (HF/ STO-3G) 計算が約100時間で実行可能である。このよ

うな技術的背景を基に,我々は,主に DNA が関与する 電子移動や転写制御に対する理論解析をできるだけ第一 原理的な立場から行うことを目指し,大規模生体分子系 の電子状態計算を行うための分子軌道法の開発ならびに 構造最適化や分子動力学計算を行うための力場の開発, さらには量子力学的コヒーレンシーの変化を考慮に入れ てナノスケールの化学反応ダイナミクスを解析するため の有効理論の開発などを進めている⁸⁾。本稿では、こう した DNA 鎖に関わる第一原理計算の現状と将来の展望 を,主に我々のグループの研究を中心に紹介したい。

E-mail: tanaka2@arl.rdc.toshiba.co.jp

2.フラグメント分子軌道法による生体高分子 の第一原理計算

よく知られているように,DNA 鎖はA(アデニン), G(グアニン),C(シトシン),T(チミン)の4種類の 塩基と糖,リン酸基の3つの構成要素に分けられる。従 来,「DNA の電子状態計算」という場合,主に,塩基, 塩基対,さらには塩基スタッキングなどの部分系に対す る計算を指すことが多かった。実際,現在においても, これら塩基に対する高精度の分子軌道(MO)計算は量 子化学における重要な研究対象となっている⁹。一方, 最近では,密度汎関数法(Density Functional Theory; DFT) など大規模分子系を扱う計算技術の進歩もあって,糖や リン酸部分も含む,しかもかなり長いDNA 鎖の電子状 態計算も行われつつあり^{10,11)},さらには水溶液中での計 算例なども報告されるようになってきた^{12,13}。

我々のグループでは,フラグメント分子軌道(FMO) 法¹⁻⁷⁾に基づき,生体高分子に適用できる非経験的分子 軌道法(ab initio MO法)プログラムの開発を行ってい る。FMO法とは,分子や分子集合体を適当なサイズの フラグメントに分割し,フラグメント(モノマー)とフ ラグメントペア(ダイマー)について MO 計算を行う だけで,分子全体のエネルギーや電子密度を計算する方 法である¹⁻⁷⁾。ここでは Hatree-Fock(HF)レベルでの FMO 法の概略を説明する。分子をN 個のフラグメントに分 割し,モノマーおよびダイマーのエネルギーをそれぞれ E_{I} , E_{II} とすると,分子の全電子エネルギーE は以下の ように近似できる。

$$E = \sum_{I>J} E_{IJ} - (N-2) \sum_{I} E_{I}$$
(1)

モノマーおよびダイマーが閉殻系であるとすると、それ ぞれのエネルギーを求める際の HF-Roothaan 方程式は、 modified Fock 演算子 $\tilde{\mathbf{F}}^{*}$ を用いて次のように表される。

$$\tilde{\mathbf{F}}^{\mathbf{x}} \mathbf{C}^{\mathbf{x}} = \mathbf{S}^{\mathbf{x}} \mathbf{C}^{\mathbf{x}} \boldsymbol{\varepsilon}^{\mathbf{x}}$$
(2)
$$\tilde{\mathbf{F}}^{\mathbf{x}} = \tilde{\mathbf{H}}^{\mathbf{x}} + \mathbf{G}^{\mathbf{x}}$$
(3)

$$H_{\mu\nu}^{x} = H_{\mu\nu}^{x} + V_{\mu\nu}^{x} + \sum B_{i} \mu |h_{i} h_{i}| \nu$$
 (4)

x = Iの場合がモノマーの,x = IJの場合がダイマーの方 程式となる。C は MO の係数行列,S は重なり行列, ε^x は軌道エネルギー ε_i を対角要素とする対角行列である。 また H^x, H^x, G^x はそれぞれ1電子,modified1電子,2 電子演算子を表す。式(2),(3)は通常の HF-Roothaan 方程式と一見同じに見えるが, H^x の中には周囲のフラ グメントからの静電ポテンシャル V^x が含まれている。 また,式(4)の第3項は MO をフラグメント内に局在 化させるための射影演算子である。 μ ,v は原子軌道の 番号を表す。これらによって,周囲のフラグメントから の静電場を感じながらモノマーおよびダイマーの電子状 態を解くことができる。

さらに,ほとんど精度を落とすことなく2つの近似を 導入することができる。モノマーおよびダイマー計算を 行う際の環境静電ポテンシャルに対する近似(esp-aoc 近似,esp-ptc近似)と,離れたフラグメント同士から なるダイマーを静電的に相互作用するモノマーの和とす る近似である⁵⁾。これらの近似を導入する距離は自由に 変更することができる。

FMO 法の特徴は,何よりも分子全体を一度に扱う必要がないことであろう。これにより大幅な高速化が可能となる。また,モノマーおよびダイマーの計算は独立して行うことが可能であるため,並列計算に向いている。したがって ab initio FMO 法を用いることで,DNA や蛋白質のような巨大分子の電子状態を高速かつ高精度に計算することが可能になる。さらに,モノマーとダイマーの計算から,フラグメント間相互作用エネルギーを容易に計算することができ,アミノ酸残基間,もしくはDNA塩基間の相互作用を定量的に解析することができる。

FMO 法の計算精度はフラグメントの分割方法に依存 する。国立医薬品食品衛生研究所で開発を進めている FMO プログラム ABINIT-MP¹⁴のデフォルトの分割方法 を Fig.1 に示す。DNA の場合,通常はヌクレオチド単 位に分割する。もしくは塩基部分をさらに別フラグメン トに変更することも可能である。ポリペプチドでは2残 基単位で分割し,残基数が奇数の場合はC未端の残基 を1フラグメントとする。残基単位であれば分割方法は 自由に選択することができるが,フラグメント間相互作 用解析を行う場合には,1残基で分割すると残基間の相 互作用を解析することができる。またジスルフィド結合 したシステイン残基に関しては,ジスルフィド結合を保 つように分割する。

ここではデフォルト分割を行った場合の HF/STO-3 G レベルでの FMO 法の精度の検証結果を示す。従来型の HF 計算には Gaussian 98 プログラムを用い, FMO-HF 計 算には ABINIT-MP を用いた。また,全ての荷電アミノ 酸残基およびリン酸基を解離基として扱った。アミノ酸 残基に関しては,2残基単位でフラグメント分割を行え ば十分な精度が得られることが既に報告されている^{3,5})。 例えば,46 残基からなるクランビン蛋白質に対しては, FMO 法と従来の HF 法との間の計算誤差は,全エネル ギーにしてわずか 0.4 kcal/mol であった。これは全エネ ルギー値の約 10⁻⁶% にしか過ぎず, FMO 法が極めて良 い近似であることがわかる。

次に, DNA 鎖について同様の比較を行った結果¹⁵)を



Fig. 1 Partition of biomolecules to fragments. (a) DNA. (b) Polypeptide. (c) Cysteine residues with disulfide linkage.

Table 1 Comparison of energies between the FMO-HF and conventional HF methods for DNA.¹⁵ The energies are expressed in units of hartree unless specified.

DNA sequence	PDB	Duplex (A + B chains)	Single strand (chain A)	Single strand (chain B)	$\Delta E\{(A+B)-A-B\}$ (kcal/mol)
(1) FMO-HF					
5'-(CGCGCG)-3'	2DCG	- 15306.636690	- 7653.602884	- 7653.750519	449.74
5'-(GTACGTAC)-3'	197 D	- 20669.794156	- 10335.574950	- 10335.596473	864.25
5'-(CCCGGCCGGG)-3'	160 D	- 26155.782225	- 13078.896862	- 13078.946652	1293.48
(2) HF					
5'-(CGCGCG)-3'	2DCG	- 15306.640027	- 7653.605122	- 7653.753490	450.92
5'-(GTACGTAC)-3'	197 D	- 20669.796533	- 10335.578013	- 10335.599607	866.65
5'-(CCCGGCCGGG)-3'	160 D	- 26155.786233	- 13078.901727	- 13078.951687	1297.18
(3) Δ E((FMO-HF)-(HF)) (kcal/mol)					
5'-(CGCGCG)-3'	2DCG	2.094	1.404	1.864	- 1.175
5'-(GTACGTAC)-3'	197 D	1.492	1.922	1.967	- 2.397
5'-(CCCGGCCGGG)-3'	160 D	2.515	3.052	3.159	- 3.697

Table 1 に示す。テスト系には 6,8,10 塩基対の 2 本鎖 DNA を用いた。従来型の HF 法と FMO-HF 法の誤差は 全エネルギーにして約3 kcal/mol であることがわかる。 1本鎖 DNA, 2本鎖 DNA, 二重螺旋形成エネルギーの いずれもエラーは同程度であった。塩基対が長くなるに つれて多少の増加傾向にあるものの,急激な変化はみら れなかった。蛋白質の場合と比較して全エネルギーの誤 差は約10-5%と1桁ほど精度は悪くなるが,定性的も しくはエネルギーの相対値を評価する際には問題ない程 度であると考えられる。なお,表中の二重螺旋形成エネ ルギーは正の値を示しており,1本鎖の方がエネルギー 的に安定という結果となるが,これはリン酸基が負に帯 電していることによるものであり,溶媒効果やカウンタ ーイオンを取り入れて電気的に中性にすることで解消さ れる。DNA 鎖に関しては現在,基底関数依存性ならび に結合エネルギーの基底関数重ね合わせ誤差に関する検

討も進めているいう。

3. DNA の構造とダイナミクス

DNA における電子移動や転写にかかわる蛋白質 DNA 複合体における分子認識などの実際的な問題を理 論的に解析するためには,通常,電子状態の一点計算だ けではなく,系の構造最適化や分子ダイナミクスの解析 も必要となる。FMO 法を基にして第一原理分子動力学 計算を行う手法も既に開発されているが⁷¹,このような アプローチは生体分子系に対しては現時点ではまだ現実 的でない場合が多く,そのため,従来用いられてきた(半) 経験的な手法との(様々な意味での)ハイブリッド法が しばしば用いられる。その際,AMBER や CHARMm な どの原子間ポテンシャル力場を使った分子力学(MM) あるいは分子動力学(MD)計算との併用などがよく用 いられるが,蛋白質とDNA の間などの界面が生じる場 合,それらの固定電荷モデル力場で取り入れられていな い分極や電荷移動の効果がしばしば重要な働きを演じ る。このような問題に対処する方法としては,いわゆる 活性部位のみ量子力学的に扱う方法(QM/MM法)や 構造に応じて各原子に割り振る電荷の値を最適化する半 古典的な手法である電荷平衡(Charge Equilibration; QEq) 法などが知られており,ここでは,後者の方法の開発と その生体高分子系への適用に関して紹介する。

電荷平衡(QEq)法は,固定電荷を用いる標準的な分 子力場とは異なり,分子の構造や環境に依存して原子上 の部分電荷 qiを決定し静電エネルギーを求める方法で あり,以下のようなエネルギー汎関数を最適化する^{16,17})。

$$E_{\rm ES}^{\rm (QEq)} = \sum_{i \ \rm Hydrogen} \left[E_i^{\,0} + \chi_i^{\,0} q_i + \frac{1}{2} J_{ii} \left(1 + \frac{q_i}{\zeta_{\rm H}^{\,0}} \right) q_i^{\,2} \right] \\ + \sum_{i \ / \ \rm Hydrogen} \left(E_i^{\,0} + \chi_i^{\,0} q_i + \frac{1}{2} J_{ii}^{\,0} q_i^{\,2} \right) + \frac{1}{2} \sum_{i \ j \ i} J_{ij} q_i q_j q_i^{\,2} \right]$$

$$(5.2)$$

ここで, E_i° , χ_i° , J_{ii}° , J_{ii} はそれぞれ中性原子のエネル ギー,電気陰性度,自己クーロンエネルギー(ハードネ スの2倍), 二中心電子反発積分を表す。また, ζ⁰_H は水 素原子に対する電子遮蔽因子である。主にJiの選び方 で様々な方法が知られているいが、ここでは、部分電荷 を決定するときとその部分電荷を用いて構造最適化や MD 計算を行うときとで矛盾無く一貫した取り扱いを行 う COEq (Consistent Charge Equilibration)法^{17,19)}につい て紹介する。分子力場の一つである Universal Force Field (UFF)と CQEq 法とを組み合わせた CUFF 力場の精度 を検証するために一連のアミノ酸分子の構造最適化計算 を行ったところ, CUFFによって最適化した構造は, HF/ 6-31 G**計算で最適化した構造を一部の二面角を除いて 比較的良く再現することがわかった。さらに,最適化し た構造における各原子上の CUFF 法による部分電荷と HF/6-31 G^{**} レベルの Restrained Electrostatic Potential (RESP)法²⁰によって求めた部分電荷との比較を行った 結果も良好であった。最近,同様の方法を DNA 塩基対 の水素結合の解析に適用したところ,水素結合長ならび に結合エネルギーの値に関して HF や MP 2 などの量子 化学計算の結果と良好な一致を示す結果が得られてお リ²¹⁾, 今後, DNA や蛋白質を含む大規模生体分子系の 構造やダイナミクスの解析への応用が期待されている。

また,生体高分子系の構造・ダイナミクスの第一原理 的解析の立場からは,FMO法に基づく微分表式の導出 や溶媒効果の取り入れ,さらには電子相関効果の取り入 れなどが進められている¹⁻⁷⁾。特に電子相関に関しては 塩基間の水素結合やスタッキングを記述する上で本質的 であり,DFT法に基づく方法論の開発²²などが進行中で ある。DNA 鎖の構造には生物学的に重要な意味がある 場合が多く,第一原理計算からのアプローチには大きな 期待が寄せられている。

4. DNA における電子移動と電気伝導

近年,ナノテクノロジーの分野において DNA を分子 ワイヤーなどのデバイス・コンポーネントとして利用し ようという試みが盛んである²³⁾。DNAにおける長距離 電子移動の研究は,もともとは遺伝子損傷や修復といっ た生物学的な現象に関わる興味から始まったが,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,また相補性・自己組織化能を利用した構造制御が 比較的容易にできるというメリット24)もあって,今や次 世代ナノテクの主役に踊り出つつあり,既に電気化学的 DNA チップ²⁵や DNA トランジスタ²⁶などに関する実験 的研究の報告もある。ここでは,こうした「電荷移動媒 体」として見たときの DNA の特徴と可能性に関し MO 法や MD 法さらには化学反応理論に基づく定量的に信 頼できる手法により第一原理からできるだけ見通しのよ い解析を行おうとしている我々の試みについて紹介す る。

溶液中の DNA 二重鎖を光励起して電荷移動のダイナ ミクスを調べる実験が様々なグループによって行われて いる。Northwestern 大学の Lewis ら²⁷は,二重鎖の端に スチルベンなどのリンカーを付けた DNA ヘアピンを用 いて,リンカーからグアニン(G)への電荷(この場合 はホール)移動の速度定数をドナーとアクセプターの エネルギーギャップの関数として系統的に測定した。 Marcus 理論によれば,電子あるいはホール移動の速度定 数は,両端(ドナー/アクセプター)および中間サイト (この場合は塩基)のエネルギー準位,サイト間の電子的 結合定数(あるいは移動積分),さらには周囲の溶媒な どによる再配置エネルギーによってコントロールされ る。電子移動速度定数の Franck-Condon 核因子の部分に おいては,このうち特に再配置エネルギーの効果が重要 な役割を演じることが知られている。我々は,水中の DNA ヘアピンに対する MD シミュレーションを行い, Franck-Condon 核因子を量子力学的に評価し, Lewis ら の実験結果をかなり良く再現することができた28)。さら に,電子移動の逆転領域において核を量子力学的に扱っ た計算と古典的に扱った計算の結果が大きくずれ,実験 結果は電子移動速度定数への核(主に水素原子による) 量子効果の影響を明らかに示していることを見出し た²⁸)。

一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs)

はゲノム配列におけるある塩基の変異であり,個体レベ ルでの疾病へのかかりやすさや薬剤応答性に大きく関わ っていると考えられている。例えば, AGT(angiotensinogen) 遺伝子における SNPs は高血圧に関係し, また, MxA 遺伝子における SNPs は C 型肝炎インターフェロ ンの薬効に関係する。近年,このような SNPs の解析ツ ールとして DNA チップに大きな期待が寄せられている が,中でも一本鎖と二本鎖の識別や SNPs の存在を電気 化学的応答の差によって検出する電気化学方式の DNA チップは,検出精度やコストの点で従来の蛍光方式の DNA チップよりも優れていると考えられている。我々 は,この電気化学的 DNA チップのパフォーマンスに関 する理論解析・計算機シミュレーションをできるだけ第 一原理的な立場から行う試みを進めている。例えば,カ リフォルニア工科大学の Barton らのグループは DNA 二 重鎖における相補的な塩基配列の1か所のAT塩基対が AC ミスマッチに置き換わることによって電極からイン ターカレータへの移動電荷量が著しく減少することを示 した25)が,我々は各塩基のエネルギーレベルやその間の 電子的結合,さらに溶媒等周囲の環境との結合を考慮に 入れた理論モデルを用いてこの実験事実を定量的に説明 することに成功した²⁹⁾。そこでは,電極電位とDNA鎖 長の関数として,超交換機構によるコヒーレントな電子 移動からホッピング機構によるインコヒーレントな電子 移動へのクロスオーバーが観察される。また, DNA内 の電子移動に関するこの解析は DNA 二本鎖の構造が通 常の B 型のままであると仮定して行ったが,水溶液中 の DNA の構造が二本鎖と一本鎖の違いや一塩基ミスマ ッチの存在によってどのように変化し,それが電子状態 や電気化学的な応答にどのように影響しうるかを調べる ための MD シミュレーションも行っている。

DNA 中をホールが移動する場合,4 種類の塩基のうち,イオン化ポテンシャルが最も小さいG がホールトラップサイトとして特別な役割を演じる。実験ならびに 真空中の塩基の量子化学計算³⁰によれば,グアニン塩基 がGG,GGG のように連続するとそのイオン化ポテン シャルはより小さくなり,より強いホールトラップサイ トとなることが示されている。DNA を良好な電荷移動 媒体たらしめている大きな要因の1つはこのG 塩基の 特別な役割にある²⁴が,それは同時に,Gサイトにトラ ップされたホールが引き起こす分解反応により DNA が 極めて酸化に弱いという欠点ももたらす。このことは, 特に基板表面上などのドライ系での DNA の分子エレク トロニクス応用にとっては重要な問題である。これに対 し,いくつかの実験グループにおいて,塩基への置換基 の導入などによって DNA 鎖を酸化されにくくする試み がなされている。例えば、フェニル置換グアニン塩基^{Ph}G の導入はその一例で、これによって DNA 二重鎖の酸化 分解が大幅に抑制されるという報告がなされている³¹)。 我々はこの実験事実を説明するために、糖やリン酸など のバックボーンや溶媒の影響も考慮に入れて MO 法に 基づいて化学修飾された DNA 鎖の電子状態計算を行 い、フェニル基による溶媒排除効果によって^{Ph}G が G よ りさらに強いホールトラップサイトとなることを見出し た³²)。さらに、DNA 鎖へのホール導入からホール移動 とトラップ、さらには酸化分解とそれと競合する逆電子 移動の化学反応全体の反応ダイナミクスを解析すること で、実験結果を定量的に説明することに成功した。

今後,より現実の応用に即した形で DNA における電 子移動や電気伝導を理論的に解析する上で,水溶液中な どでの大きな構造ゆらぎによる電子状態(エネルギー準 位や電子的結合定数)の変化³³⁻³⁶⁾,電子相関効果³⁷⁾,電 極で DNA を挟んだ場合の界面の影響を考慮に入れた電 流 電圧特性³⁸などの解明が重要な課題となろう。

5.DNAと転写因子との相互作用

次に,DNA 鎖を含む生体高分子系への第一原理計算 の応用例として,転写における分子認識機構の解析に関 して紹介する。cAMP 受容蛋白質(cAMP Receptor Protein; CRP)は,シグナル伝達物質である cAMP (cyclic 3':5'adenosine monophosphate)との結合によって DNA 結合 が誘発され,糖代謝系遺伝子の転写を促進する転写制御 因子である。例えば,大腸菌のラクトースオペロンの転 写に対しては,転写を抑制するラクトースリプレッサー とともに二重調節の機能を果たしている(Fig.2)。これ らの転写制御機構を明らかにするためには,まず DNA と転写因子との間の特異的相互作用について理解する必 要があり,これまでに多くの実験的研究がなされてきた。 特に CRP はコンセンサス配列 5'(TGTGA)3'との特異 的な認識機構を持つことが実験的に明らかにされてい る。ここでは,それらの実験結果に理論的解釈を与える



Fig. 2 Schematic of the transcriptional regulation mechanism for the lactose operon controlled by cAMP and CRP in *Escherichia coli*.

ことを目的として FMO 法を用いた DNA-CRP 相互作用 解析を行った一例を紹介する³⁹。

生体内では, CRPと cAMPとの複合体は二量体とな って DNA に結合することが知られているが, 我々はま ず単量体に対する計算を行った。大腸菌 CRP と cAMP, DNA との複合体構造は PDB (Protein Data Bank) 結晶構 造 1 DB 7 を用い,水分子を全て削除した。また PDB デ ータには水素原子の座標がないため,ソフトウェア Insight II を用いて水素原子を付加し, CHARMm 力場を用 いて付加した水素原子の構造最適化を行った。その際, 全ての荷電アミノ酸および DNA のリン酸基を解離基と して扱った。電子状態計算では, FMO-HF/STO-3Gレ ベルでの1点計算を行った。また残基, ヌクレオチド単 位の相互作用解析を行うために,フラグメント分割は DNAでは1ヌクレオチド単位,蛋白質では1アミノ酸 残基単位とした。CRPは200残基, DNA 鎖は11塩基 対からなり, cAMPを含めた全原子数は 3932 である。 全電子状態計算と共にフラグメント間相互作用解析を行 い, ヌクレオチド, 残基単位での DNA-CRP 間相互作用 を解析した。計算機は Dual Xeon 2.2 GHz のクラスター を8ノード(16 CPUs)用い,計算時間は約14時間を 要した。

大腸菌 CRP と cAMP, DNA との複合体の FMO 計算

結果を Fig.3 に示す。 左図は cAMP-CRP 複合体と各ヌ クレオチドとの相互作用を表す。特に濃い青色を示し強 く安定化しているのは,コンセンサス配列とその周辺, 5'(aaaaTG)3'の部分である(コンセンサス配列を大文 字,その他の配列を小文字で表した)。すなわち,リガ ンドである cAMP を伴った CRP が DNA と結合すると, コンセンサス配列周辺と強く相互作用し安定化している 様子がわかる。一方,右図は DNA 鎖と各アミノ酸残基 および cAMP との相互作用を示しており, DNA 鎖から 見た場合にどのアミノ酸残基が安定化および不安定化に 寄与しているのかがわかる。これらにより、どのアミノ 酸や塩基に変異を加えると DNA 蛋白質の結合性が効果 的に変化するか,などの知見を得ることができる。ここ では蛋白質や DNA 全体とその他のフラグメントとの相 互作用を紹介したが,もちろん個々のアミノ酸残基,ヌ クレオチドごとの相互作用を詳細に解析することも可能 である。

さらに、CRP系に対する解析と並行して、転写抑制 を行うラクトースリプレッサー系⁴⁰ならびに女性ホルモ ンや内分泌攪乱物質に対する核内受容体であるエストロ ゲンレセプター系に関しても、DNA 蛋白質複合系の配 列特異的分子認識機構の解析を進めている。



Fig. 3 The results by the FMO calculation for the complex of DNA and cAMP-CRP in *Escherichia coli*. The CPK, tube and ladder representations refer to cAMP, CRP and DNA, respectively. The color represents the sign and strength of the interactions between the fragments. For the domain denoted by yellow, the blue and red fragments illustrate the stabilized and unstabilized interactions, respectively, and their deepness demonstrates the strength of interaction. Left: the interactions between the cAMP-CRP complex and the DNA base fragments. Right: the interactions between the DNA duplex and the amino acid residue or cAMP fragments. The illustration was provided by BioStation Viewer.¹⁴

6.おわりに

DNA 鎖がリン酸基を有し,そこが通常負に帯電して いることは,DNA の構造やダイナミクス,電子状態を 考える上で重要なポイントである。本稿で取り上げた電 子移動や転写制御の問題を考える際,DNA は水溶液中 でその機能を発揮することが多いが,その理論的解析に あたっては水分子やカウンターイオンが界面で果たす役 割に十分な注意を払う必要がある。これら周囲の環境や 蛋白質,その他の核酸分子等との相互作用も考慮に入れ た大規模系の取り扱いが,今後のDNA の第一原理計算 にとって大きな課題の1つとなろう。

ACT-JST プロジェクト⁸の共同研究者として日頃ご指 導ならびに議論をしていただいている,関野秀男,長嶋 雲兵,岡田 朗,後藤仁志,横島 智,青木孝造,渡邊 寿雄,小川哲司,杉木真一郎,中谷和彦,古明地勇人, 北浦和夫,神沼二眞の諸氏を初めとする方々にこの場を お借りして感謝申し上げます。

文 献

- K. Kitaura, T. Sawai, T. Asada, T. Nakano and M. Uebayasi: Chem. Phys. Lett. **312**, 319 (1999).
- K. Kitaura, E. Ikeo, T. Asada, T. Nakano and M. Uebayasi: Chem. Phys. Lett. 313, 701 (1999).
- T. Nakano, T. Kaminuma, T. Sato, Y. Akiyama, M. Uebayasi and K. Kitaura: Chem. Phys. Lett. 318, 614 (2000).
- K. Kitaura, S. Sugiki, T. Nakano, Y. Komeiji and M. Uebayasi: Chem. Phys. Lett. 336, 163 (2001).
- T. Nakano, T. Kaminuma, T. Sato, K. Fukuzawa, Y. Akiyama, M. Uebayasi and K. Kitaura: Chem. Phys. Lett. 351, 475 (2002).
- Y. Inadomi, T. Nakano, K. Kitaura and U. Nagashima: Chem. Phys. Lett. 364, 139 (2002).
- Y. Komeiji, T. Nakano, K. Fukuzawa, Y. Ueno, Y. Inadomi, T. Nemoto, M. Uebayasi, D. G. Fedorov and K. Kitaura: Chem. Phys. Lett. **372**, 342 (2002).
- 8)本稿の内容は主に,科学技術振興事業団(現・科学技術振興機構)計算科学技術活用型特定研究開発推進事業(ACT-JST)の研究課題「DNAのナノ領域ダイナミクスの第一原理的解析」の研究成果に基づくものである。
- 9) J. Sponer, J. Leszczynski and P. Hobza: J. Mol. Struct. (Theochem) **573**, 43 (2001).
- N. Kurita and K. Kobayashi: Comput. Chem. 24, 351 (2000).
- P.J. de Pablo, F. Moreno-Herrero, J. Colchero, J. Gomez-Herrero, P. Herrero, A.M. Baro, P. Ordejon, J.M. Soler and E. Artacho: Phys. Rev. Lett. 85, 4992 (2000).
- 12) R.N. Barnett, C.L. Cleveland, A. Joy, U. Landman and G.

B. Schuster: Science 294, 567 (2001).

- 13) F.L. Gervasio, P. Carloni and M. Parrinello: Phys. Rev. Lett. 89, 108102 (2002).
- 14) ABINIT-MP プログラムおよび視覚化ソフト BioStation Viewer は以下の web サイトから入手できる。 http://moldb.nihs.go.jp/abinitmp/
- 15) K. Aoki, T. Harada, S. Tanaka and T. Nakano: Proceedings of the 3rd Annual Meeting of Chem-Bio Informatics Society (September 18 20, 2002, Tokyo) (2002) p. 109.
- 16) A.K. Rappe and W.A. Goddard III: J. Phys. Chem. 95, 3358 (1991).
- 17) O. Kitao and T. Ogawa: Mol. Phys. 101, 3 (2003).
- 18) T. Nakano, T. Kaminuma, M. Uebayashi and Y. Nakata: Chem-Bio Informatics Journal 1, 35 (2001).
- T. Ogawa, O. Kitao, N. Kurita, H. Sekino and S. Tanaka: Chem-Bio Informatics Journal 3, 78 (2003).
- 20) C.I. Bayly, P. Cieplak, W.D. Cornell and P.A. Kollman: J. Phys. Chem. 97, 10269 (1993).
- 21) T. Ogawa, N. Kurita, H. Sekino, O. Kitao and S. Tanaka: Chem. Phys. Lett. **374**, 271 (2003).
- 22) N. Kurita, H. Inoue and H. Sekino: Chem. Phys. Lett. 370, 161 (2003).
- 23) 田畑 仁:高分子 52, 126 (2003).
- 24) C. Dekker and M.A. Ratner: Phys. World 14, 29 (2001).
- 25) S.O. Kelley, E.M. Boon, J.K. Barton, N.M. Jackson and M.G. Hill: Nucleic Acids Res. 27, 4830 (1999).
- 26) H. Watanabe, C. Manabe, T. Shigematsu, K. Shimotani and M. Shimizu: Appl. Phys. Lett. 79, 2462 (2001).
- 27) F.D. Lewis, R.S. Kalgutkar, Y. Wu, X. Liu, J. Liu, R.T. Hayes, S.E. Miller and M.R. Wasielewski: J. Am. Chem. Soc. **122**, 12346 (2000).
- 28) S. Tanaka and Y. Sengoku: Phys. Rev. E 68, 031905 (2003).
- 29) A. Okada, S. Yokojima, N. Kurita, Y. Sengoku and S. Tanaka: J. Mol. Struct. (Theochem) 630, 283 (2003).
- 30) H. Sugiyama and I. Saito: J. Am. Chem. Soc. 118, 7063 (1996).
- 31) K. Nakatani, C. Dohno and I. Saito: J. Am. Chem. Soc. 124, 6802 (2002).
- 32) S. Yokojima, A. Okada, W. Yanoi, N. Yoshiki, N. Kurita, S. Tanaka and K. Nakatani: submitted for publication.
- 33) A.A. Voityuk, K. Siriwong and N. Rosch: Phys. Chem. Chem. Phys. 3, 5421 (2001).
- 34) A. Troisi and G. Orlandi: J. Phys. Chem. B 106, 2093 (2002).
- 35) D. Hennig: Eur. Phys. J. B 30, 211 (2002).
- 36) J.P. Lewis, T.E. Cheatham, III, E.B. Starikov, H. Wang and O.F. Sankey: J. Phys. Chem. B 107, 2581 (2003).
- 37) G. Brunaud, F. Castet, A. Fritsch and L. Ducasse: Phys. Chem. Chem. Phys. 4, 6072 (2002).
- 38) X.-Q. Li and Y.-J. Yan: Appl. Phys. Lett. 79, 2190 (2001).
- K. Fukuzawa, Y. Komeiji, Y. Sengoku, S. Tanaka and T. Nakano: in preparation.
- 40) M. Matsuoka, Y. Sengoku and N. Kurita: J. Comput. Aided Chem. 4, 35 (2003).