

平成21年5月10日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2005～2008

課題番号：17360075

研究課題名（和文） バイオ・ナノ流動ダイナミクスの数理と応用

研究課題名（英文） Theoretical study and its application of bionano-flow dynamics

研究代表者

川野 聡恭（KAWANO SATOYUKI）

大阪大学・大学院基礎工学研究科・教授

研究者番号：00250837

研究成果の概要：量子効果を取り入れた分子動力学解析手法を確立し、先端的分子計測技術による流動実験と比較することによって、バイオ・ナノ流動予測技術の妥当性を検討した。ここで開発したシミュレーション技術を、DNA 自己組織化流動、抗原・抗体反応、すい島細胞の破壊過程、リゾチーム分子のシリコン基板への吸着現象、二次電池内のリチウムイオン流動、赤血球を含む超微小球体の運動に適用し、工業・臨床応用への有用性を確認した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	9,600,000	0	9,600,000
2006年度	2,200,000	0	2,200,000
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
総計	15,500,000	1,110,000	16,610,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・流体工学

キーワード：バイオ・ナノテクノロジー、分子流体力学、コンピュータシミュレーション、数理モデル、生体電子デバイス、マルチスケール解析、マルチフィジックス解析、非線形ダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

X線回折・NMR によるたんぱく質結晶構造解析あるいは DNA の遺伝子としての生化学的機能解析は今日まで数多くの研究がなされてきた。しかし、ほとんどの研究が実験ベースであり、膨大なトライアル&エラーの蓄積の下に成立しているので、研究開発が非効率で現象の本質的理解や系統的な学理の確立が困難である。なによりも留意すべき点は、たんぱく質や DNA はその機能発現が水溶液中でのみなされるにもかかわらず、研究手法が乾燥状態（結晶）のX線回折や顕微鏡観察に頼らざるを得ない現状にある。水溶液のダイナミクス、すなわち、分子の不規則

運動、pHおよび水和構造の変化等が、これらの機能に著しく大きな影響を与えることは生命科学の常識であるが、従来の学問的枠組みではアプローチが困難な状況である。一方、コンピュータシミュレーション研究において、全電子・原子解析には膨大なメモリ容量と計算時間を必要とし、単に第一原理計算に基づくエネルギー最小化状態の推定や、経験的MD法による簡易計算が大多数である。これは、分子軌道計算や分子動力学計算における著名市販ソフトが広く普及し、汎用性と簡便性を重視した結果、そのモデルの単純さに起因して生命現象の本質を捉え切れておらず、効果的な数理モデルの進歩がな

いことにも関連している。

2. 研究の目的

近年のバイオ・ナノテクノロジーの進歩によって、特定のたんぱく質や酵素が大量生成可能になり、さらには、望みの塩基配列をした DNA 断片(長さ 10~30nm)が自由に合成できるようになった。これらの構造解析から、その生理学的機能、反応機構、分子進化の概要が解き明かされつつあり、また DNA の相補性、自己複製能、熱変性性能、構造転換機能を有効に利用し、そのナノ構造体およびナノ機械を創製する研究が黎明期にある。特筆すべき点は、たんぱく質や DNA、いわゆる、生体高分子の「特殊機能材料」としての上記特性が水溶液中でのみ発現するという事実である。したがって、バイオメディシンやナノ機械の製造プロセスを、pH 等の従来生化学で重視されてきたパラメータのみでなく、時間および温度に強く依存するダイナミカル流動システムとしてとらえ、生命科学における理論流体力学的研究のブレークスルーを図る必要がある。本研究では、生体高分子の特殊機能を捉え得る新しい流動理論モデルとそれに基づく第一原理量子・分子動力学シミュレーションコードの開発を通じて、バイオ・ナノ流動ダイナミクスの学理を確立し、その応用技術を探る。

3. 研究の方法

本研究計画では、多様な環境下(超高真空、液体中、空気中)での観察が可能な環境型プローブ顕微鏡(原子間力顕微鏡)と蛍光一分子計測による詳細な実験観察を基礎として、その水和構造と時空間特性データを得るべく分子動力学シミュレーション、量子化学に基づく第一原理計算、そして、熱運動に起因する水分子の流動ダイナミクスを融合化する。これにより、新しい学際領域であるバイオ・ナノ流動ダイナミクスの学理を確立することを目的とする。主となる研究開発は、DNA やたんぱく質における水溶液中での流動ダイナミクス機構を明らかにするための、シミュレーティング方程式に基づく第一原理分子動力学シミュレーションモデルを開発することである。本研究では、特に、これら生体高分子の機能発現が水溶液中で行われることに留意し、水溶液の pH、温度、構成分子のブラウン運動、生体高分子の水和構造の時空間変化が解析可能な数理モデルの開発に注力する。

4. 研究成果

活性化ラジカルによる DNA 崩壊の量子化学解析によって基礎的知見を得て、DNA の塩基対を介した電気伝導特性に関するポーラロン解析モデルを構築した。そのダイナミクスや温度依存性に関する具体的な数値計算と実験事実との対比によって、理論モデルの妥当性を確認することができた。これらの成果、とくに、「電子衝突による DNA らせん崩壊の量子力学的アプロ

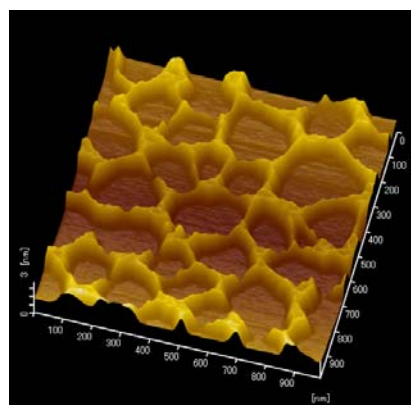


図1 自己組織化流動によってマイカ基板に固着した DNA 断片のネットワーク構造 (3次元原子間力顕微鏡写真)

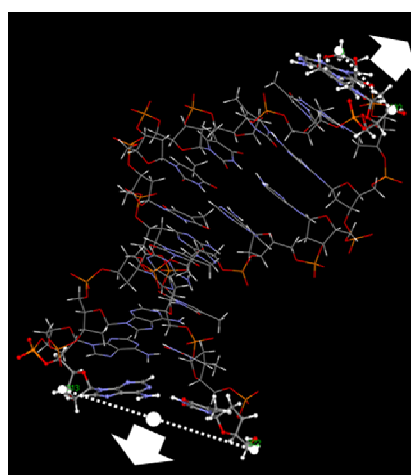


図2 Steered Molecular Dynamics による DNA の引張シミュレーション

ーチ」の論文で、日本シミュレーション学会論文賞を受賞した。また、Poly(dA)・Poly(dT)人工 DNA 断片を用い、マイカ基板上に自己組織化した DNA ネットワーク構造を原子間力顕微鏡で詳細に観察し、その性状について 2 次元および 3 次元のフラクタル解析を試み、その定量化に成功した。また、水中や高真空中で DNA 自己集合化ネットワークの詳細観察が可能になるように環境型プローブ顕微鏡ユニットを導入し、マイカ基板、シリコン系基板、カーボン系基板を用い、種々の環境下での基板原子と DNA 構成原子の相互作用に注目した研究を行った。

図1は 50 塩基対人工 DNA を水溶液としてマイカ基板に滴下し、水成分を窒素ガスによって除去して作成した DNA ネットワークである。50 塩基対 DNA は、一本の長さが約 17nm であるが、それが、長さ方向に連結し、長くかつ太い性状を持つ網目構造が自発的に形成されていることがわかる。詳細な流動状態は未だ不明であるが、機械工学的に考えると、網目構造の Y 型分岐点

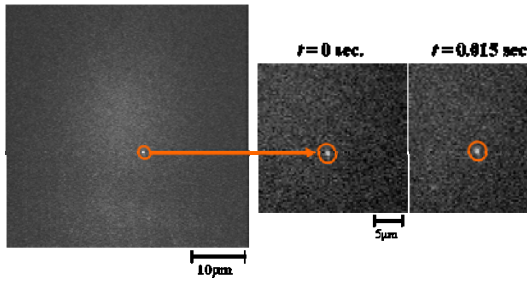


図3 蛍光化リゾチームの一分子観察

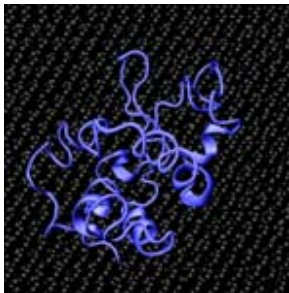


図4 無機基板近傍におけるリゾチームの運動

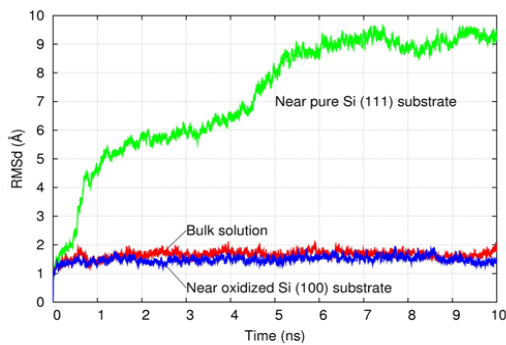


図5 吸着過程に伴うリゾチーム分子の変形

ではDNAに張力が発生しているはずであると推定し得るので、図2に示すようなDNAの引張シミュレーションを行った。これは、Steered Molecular Dynamicsシミュレーションという比較的新しい手法を用いており、ヤング率が文献値と良い一致を示していることを明らかにした。このデータは水溶液中で自己組織化するDNAに働く外力を推定し、流動シミュレーションを行う際に有効な基礎データとなる。

このネットワーク構造はチューリングの反応拡散波による性状の模倣が可能である。ナノスケールの生体高分子自己集合化現象を古典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、知的好奇心が大きいに刺激された。現在はその散逸構造やカオスとの関連性を調べている。

ここで得られた分子動力学シミュレーション技術を、シリコン基板上に固着流動するリゾチーム分子の挙動に適用した。リゾチーム分子は比較

的分子量が小さく、また、その時空間挙動を蛍光一分子計測技術で捉えることに成功したので、理論と実験のより厳密な比較検討が可能となった。図3は蛍光化リゾチームの流動写真、図4は純シリコン(111面)上に固着流動するリゾチームの分子動力学解析結果、図5は吸着過程におけるリゾチームの変形度を示している。図3、4間では、やはり、時間スケールに大きな相違があるものの、拡散係数を求めて比較したところ、良い一致を見た。また、図5から、基板との相互作用によって、高分子の変形挙動に大きな差異が現れることを示した。

また、分子構造に対する粗視化モデルを用いた鎖状高分子の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、電場を用いた新しいDNA分離技術を提案した。

本研究で得られたバイオナノ流動ダイナミクスのマイクロからマクロまでの理論・シミュレーション技術を適用し、抗原・抗体反応、すい臓細胞の破壊過程、リゾチーム分子のシリコン基盤への吸着現象、電解質中のイオン流動(リチウムイオン電池)、赤血球を含む超微小球体の運動を理論ならびに実験の両面から解明し、工業・臨床応用を模索した。これらの成果は、国内外の一流雑誌や学会誌に掲載されている。また、先端的かつ学際的な流体科学研究の専門雑誌(International Journal of Emerging Multidisciplinary Fluid Sciences)を英国のMulti-Science社から季刊として発行した。Editorial Boardとして学術雑誌の編集活動に注力している。全体として、研究当初の計画は順調に遂行され、所定の成果が得られたと考えている。

今後の展望として、粗視化のレベルをヌクレオチド単位(リン酸基+デオキシリボース+塩基)とすることによって、SNP(一塩基多型)解析にシミュレーションで対応することを目指している。これは、ゲル電気泳動法によるDNA分離技術の超高精度化に寄与する可能性が高く、また、ガンの遺伝子診断への応用が期待されている。この一塩基分解能粗視化モデルに、より微視的な情報を取り入れるため、量子化学解析の深化・高度化に関する応用数学的研究も積極的に行っている。すなわち、電子状態を記述するシュレーディンガー方程式を非定常に拡張し、外部電場の影響を摂動法によって捉え、そこから粗視化モデル構築に必要なデータを抽出することを可能にする。今後は、本研究で得られた理論解析手法を臨床に応用すべく、綿密に実験データと比較して、その有用性を検討し、さらなる高度モデリング技法を開発していきたいと考えている。

また、本研究の理論的取り組みを制限ナノ空間に応用していく研究プロジェクトを計画している。ナノの視点における境界条件の

取り扱いを厳密化することにより、本研究成果を生体高分子トモグラフィ技術、ナノ流路を用いた分子診断、燃料電池における異種界面設計に適用することを目指す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

① Itsuo HANASAKI, Toru YONEBAYASHI, and Satoyuki KAWANO

Molecular Dynamics of a Water Jet from a Carbon Nanotube

Phys. Rev. E., Vol. 79(2009), pp. (046307-1)-(046307-7).

See also

Virtual Journal of Nanoscale Science & Technology, Vol. 19, Issue 16(2009).

② Satoyuki KAWANO and Futoshi NISHIMURA

Electrochemical-Thermal Analysis of Lithium Ion Batteries Based on Multiphase Fluids Model

International Journal of Transport Phenomena, Vol. 10, No. 2 (2008), pp. 93-101.

③ Itsuo HANASAKI, Tomoaki HAGA, and Satoyuki KAWANO

Antigen-antibody Unbinding Process through Steered Molecular Dynamics of a Complex of Fv Fragment and Lysozyme

J. Phys.: Condens. Matter, Vol. 20 (2008), pp. (255238-1)-(255238-10).

④ Hirofumi SHINTAKU, Teru OKITSU, Satoyuki KAWANO, Shinichi MATSUMOTO, Takaaki SUZUKI, Isaku KANNO, and Hidetoshi KOTERA

Effects of Fluid Dynamic Stress on Fracturing of Cell-Aggregated Tissue during Purification for Islets of Langerhans Transplantation

J. Phys. D: Appl. Phys., Vol.41 (2008), pp.(115507-1)-(115507-9).

⑤ 新宅博文, 米村翼, 磯山隆, 山家智之, 川野聡恭

酸素付加能を有する振動流型人工心臓の開発とその牛血実験

日本機械学会論文集(B編), 第 74 巻, 第 740 号(2008), pp. 862-870.

⑥ Itsuo HANASAKI, Akihiro NAKAMURA, Toru YONEBAYASHI, and Satoyuki KAWANO

Structure and Stability of Water Chain in a Carbon Nanotube

J. Phys.: Condens. Matter, Vol. 20 (2008), pp. (015213-1)-(015213-7).

⑦ Hirofumi SHINTAKU, Shosaku IMAMURA, and Satoyuki KAWANO

Microbubble Formations in MEMS-fabricated Rectangular Channels: A High-speed Observation

Exp. Thermal Fluid Sci., Vol.32 (2008), pp.1132-1140.

⑧ Itsuo HANASAKI, Hiroto TAKAHASHI, Gen SAZAKI, Kazuo NAKAJIMA, and Satoyuki KAWANO

Single-molecule Measurements and Dynamical Simulations of Protein Molecules near Silicon Substrates

J. Phys. D: Appl. Phys., Vol. 41 (2008), pp. (095301-1)-(095301-9).

⑨ 新宅博文, 多田羅晋生, 川野聡恭

Electrowetting および界面振動を用いた鉛直平行電極上における微小液滴の輸送

日本機械学会論文集(B編), 第 74 巻, 745 号(2008), pp.1942-1950.

⑩ 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).

⑪ Takaaki SUZUKI, Isaku KANNO, Hidetoshi HATA, Hirofumi SHINTAKU, Satoyuki KAWANO, and Hidetoshi KOTERA

Improving the Performance of a Traveling Wave Micropump for Fluid Transport in Micro Total Analysis Systems

Complex Medical Engineering (edited by J.L. Wu, K. Ito, S. Tobimatsu, T. Nishida, H. Fukuyama (Eds.)), pp. 1-12, Springer, 2007.

⑫ Satoyuki KAWANO, Atsushi SHIRAI, and Shohei NAGASAKA

Deformations of Thin Liquid Spherical Shells in Liquid-liquid-Gas Systems

Phys. Fluids, Vol. 19(2007), pp. (012105-1)-(012105-11).

⑬ Hirofumi SHINTAKU, Takeo KUWABARA, Satoyuki KAWANO, Takaaki SUZUKI, Isaku KANNO, and Hidetoshi KOTERA

Micro Cell Encapsulation and Its Hydrogel-Beads Production Using Microfluidic Device

Microsyst. Technol., Vol. 13 (2007), pp. 951-958.

[学会発表](計 70 件)

[図書](計 3件)

[その他]ホームページ

<http://bnf.me.es.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

川野 聡恭(KAWANO SATOYUKI)

大阪大学・大学院基礎工学研究科・教授

研究者番号:00250837

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし