

電子移動を利用した DNA 塩基配列検出のモデル

(東芝・豊橋技科大・科技団・筑波大)

○田中成典・夏目貴行・薄木亮・仙石康雄・

小川哲司・栗田典之・横島智・岡田朗

DNA 鎖を分子ワイヤーとして用いる応用の一つとして、DNA における一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms ; SNPs) を検出するための電気化学的 DNA チップがある。このデバイスにおいては、従来の蛍光方式の DNA チップと異なり、一本鎖と二本鎖の違い、あるいは SNPs による塩基ミスマッチの存在を電気化学的応答の差として検出する。本研究では、DNA の構造や塩基配列の違いによる電子移動速度定数の差を記述する理論モデルを構築し、電気化学的 DNA チップに対する実験結果との定量的な比較を試みる。

カリフォルニア工科大学の Barton らのグループは、図 1 に示すような金電極上に DNA 鎖を固定した構造を用いて塩基ミスマッチの電気化学的応答に対する影響を系統的に測定した [1]。彼らの結果によると、AC ミスマッチの存在によって相補的な AT ペアの場合と比較して移動電荷量の大幅な減少が見られる (図 2)。この実験結果を説明するために、我々は図 3 に示すようなモデルを考え、DNA 鎖を介した電極とインタカレータ間の電荷移動速度定数と移動電荷量を計算した。電極電位に依存して電子移動メカニズムは直接的 (コヒーレント) な超交換機構から間接的 (インコヒーレント) なホッピング機構へのクロスオーバー (図 4) を示し、図 5 に示すように、AC ミスマッチの存在によって電荷移動速度定数の低下が見られる [2]。但し、この解析においては、AC ミスマッチの存在によってその周囲の電子移動積分が約半分程度に減少するという現象論的な仮定がなされた。

本研究では、より第一原理的な立場から実験との比較を行うために、まず分子力学および分子動力学法によって水溶液中の DNA 鎖の構造を求め、それを用いて分子軌道法により電子状態計算を行い、電子移動反応速度を評価するために必要な分子パラメータを算出するという方法を取った。DNA 鎖の構造計算は相補的な塩基対ならびにミスマッチのある場合 (図 6) の双方に対して行われ、さらに二本鎖と一本鎖の比較も行った (図 7)。また、Protein Data Bank 等に登録されている実験構造との比較も行った。

図 8 は AC ミスマッチ部分を切り出して計算した HOMO (A に局在)、LUMO (C に局在) の電子分布である。分子軌道計算に基づきミスマッチ近傍の電子移動積分を評価してみると、確かに AC ミスマッチの場合に AT 相補対の場合と比べて移動積分の値が低下することが確認され、以前のモデルの正当化がなされた。このように、構造→電子状態→電子移動反応速度の計算の道筋をボトムアップ的に辿ることにより、塩基ミスマッチの存在を電気化学的に検出する手法の基礎付けを理論的に行うことが可能となりつつある。

本研究は、科学技術振興事業団・計算科学技術活用型特定研究開発推進事業の研究課題「DNA のナノ領域ダイナミクスの第一原理的解析」の援助を受けて行われた。

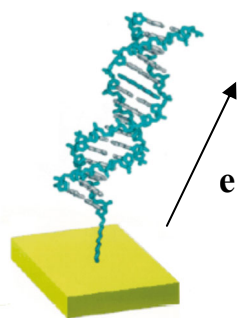


図 1. 電気化学的 DNA チップの模式図

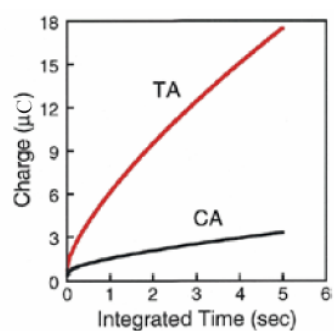


図 2. AC ミスマッチによる電荷移動量の低下 [1]

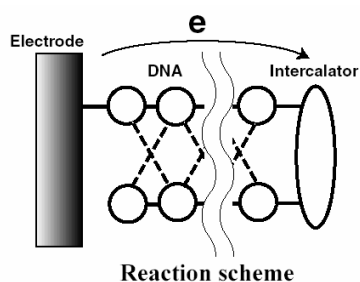


図 3. DNA チップのモデル

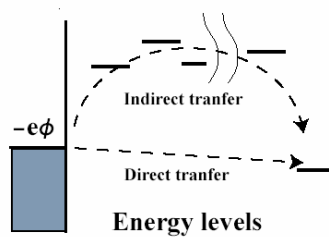


図 4. 電子移動スキーム

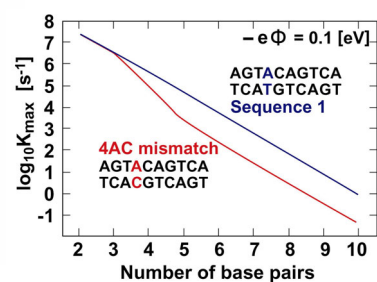


図 5. 速度定数の計算結果 [2]

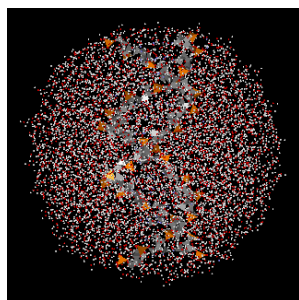


図 6. ミスマッチがある場合の MD

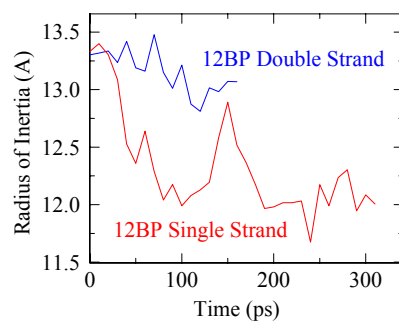


図 7. 2本鎖と1本鎖の慣性半径の時間変化

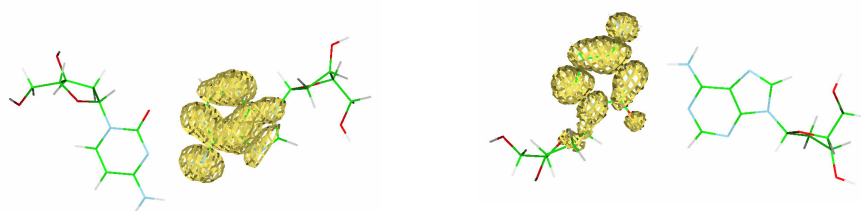


図 8. AC ミスマッチ塩基対の HOMO (左) ならびに LUMO (右)

[文献]

[1] S.O. Kelley *et al.*, Nucleic Acids Res. **27** (1999) 4830.

[2] A. Okada *et al.*, J. Mol. Struct. (Theochem) **630** (2003) 283.