

形態変化する分子を用いた並行計算と分散計算

萩谷昌己・John A. Rose (東京大学・大学院情報理工学系研究科)

陶山明 (東京大学・大学院総合文化研究科)

藤井輝夫・山本貴富喜 (東京大学・生産技術研究所)

浅沼浩之 (東京大学・先端科学技術研究センター)

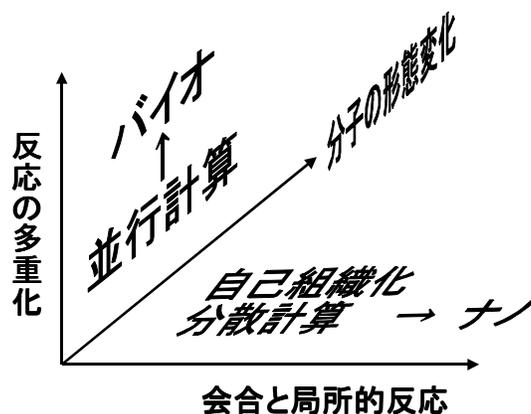
村田智 (東京工業大学・大学院総合理工学研究科)

岩崎裕・吉信達夫 (大阪大学・産業科学研究所)

西川明男 (大阪電気通信大学)

目標

本研究は、分子コンピューティング技術をナノテクノロジーとバイオテクノロジー(特に遺伝子計測)へ応用することを念頭において、分子と分子反応の設計論を確立することを目指している。そのために、分子の形態変化、会合と局所的反応、反応の多重化の三つの軸に沿って研究を進める。



分子の設計に関しては、特に形態変化する分子をその中心におく。形態変化によって複数の状態間の遷移が可能な分子は、分子マシンや分子素子の基礎となるだろう。これと、分子反応の設計に関する二つの軸(会合と局所的反応および反応の多重化)を組み合わせる。

会合は複数の分子が複合体を形成することである。局所的反応とは分子の複合体において近傍の分子とのみ可能な反応のことであり、分子間の通信を実現し、分子による分散計算の基礎になると考えられる。会合と局所的反応によって、プログラムされた分子の自己組織化によるパターン形成、パターンの固体表面への固定、固体表面上でのパターン形成などが可能となる。分子の形態変化と会合や局所的反応を組み合わせることにより、さらに複雑な分散計算、そして、パターン形成が可能になるだろう。

反応の多重化とは、並行に進む複数の反応をシステムティックに組み合わせることを意味している。分子の形態変化は多重化すべき反応の一つとして自然に含まれ、多様な形態変化が並列に実行されることになる。生化学反応の自動制御ロボットやマイクロ生化学システムにおける反応が多重化された反応の典型例であり、このような反応の設計論を確立することが本研究の目標である。特に、ハイブリッド型 DNA コンピュータとシリコン樹脂を用いたマイクロ生化学システム、および、これらの DNA コンピュータにおける反応を効率よく制御するためのプログラミング言語とコンパイラの開発を行い、遺伝子発現解析や SNP 解析への応用を目指す。

本年度の研究実施計画

●分子の形態変化 ⇒ 分子マシン

萩谷は、形態変化する DNA 分子の設計方法に関する研究を行う。特に、一つの二次構造から別の二次構造へ形態を変化させる DNA 配列の設計方法の開発を始める。さらに、形態変化する分子による並行計算と分散計算のモデルの構築に着手する。Rose も統計力学を用いた DNA 配列設計の研究を行い、萩谷の方法との統合を目指す。浅沼は、DNA 分子に挿入され形態変化を惹き起こす光機能性超分子の研究を進める。萩谷は、光機能性超分子を上述した配列の設計方法に取り込むを試みる。

●分子の自己組織化 ⇒ 微小パターン形成

岩崎、吉信、西川は、DNA、タンパク質などを中心に生体分子のシリコンの固体表面への固定法を調査し、分子計算を活用した固体表面の微細加工に最もふさわしい固定法を選択する。また、固定が行われたかどうかを確認するための観察手法についても並行して研究を行う。村田は、複数の内部状態をもち、互いに通信が可能な分子を仮定して、それらが自己組織的に一定の形態（フォーメーション）を形成する方法について研究する。具体的には、分子の結合状態に応じて結合の距離や頻度を制御することにより、マクロな構造を生成するアルゴリズムを、計算機シミュレーションと機械モデル分子実験の両面から検討する。

●DNA コンピュータ ⇒ バイオテクノロジーへの応用

陶山は、電子コンピュータによって反応が自動制御されるハイブリッド型 DNA コンピュータのための信頼性の高い DNA 符号の開発を行うとともに、各々の計算規則、制御命令を実行する実験を独立させて行い、それぞれについて効率とエラー率の特性を測定する。藤井は、シリコン樹脂を用いたマイクロ生化学システムのマイクロチャンネル内における DNA のハイブリダイゼーション反応を行うとともに、情報担体である DNA 分子と過剰量のプローブとを電気泳動等の方法によって、分離することを試みる。萩谷は、これらの DNA コンピュータにおける反応を効率的に制御するための方法について研究を進める。特に、ハイブリッド型 DNA コンピュータのためのプログラミング言語とコンパイラを開発を行う。

本年度の研究成果

萩谷昌己・John A. Rose (東京大学・大学院情報理工学系研究科)

形態によって状態を表現し、形態変化によって状態遷移を実現する多状態 DNA ナノマシンの実現を目指して、DNA の連続したヘアピン構造が逐次的に構造変化を起こすことによって多状態をとる分子機械のための二次構造設計に関する研究を進めた。このような大規模な分子機械を複数の DNA 分子で構成する場合には既存の方法では不十分である。そこで本研究の二次構造設計では、DNA 二次構造をヘアピン構造単位で分割することにより、構造変化動作の網羅的な検証を可能にしている。また最小自由エネルギーだけでなく、DNA の構造変化経路や sub-optimal な構造を含んだ出現頻度も考慮している。そのため、より熱力学的に適した配列の設計が可能である。以上の二次構造設計を C 言語でプログラム実装した。また光による分子機械の制御を目指して、浅沼のアゾ化合物を付加した DNA の熱力学的モデルを提案し、そのモデルを実装した。

分子反応の設計に関しては、陶山たちのハイブリッド型 DNA コンピュータのためのコンパイラの開発を進めた。プレートやチップ(ラック)のテーブルへの割り付けはレジスター割り付け、磁気ビーズ・ユニットやディスペンサなどのモジュールのスケジューリングは命令スケジューリングと考えることにより、既存のコンパイラ技術を反応制御の自動スケジューリングへ応用することを試みた。特に、全体の反応時間を最小化するために整数線形計画法が応用できることを見出し、この方向に従ってスケジューリングのアルゴリズムの定式化を進めた。

Masami hagiya: Towards Molecular Programming, to appear in *Natural Computing Series* of Springer Verlag, to appear in 2003.

Masami Hagiya, John A. Rose, Ken Komiya, and Kensaku Sakamoto: Complexity analysis of the SAT engine: DNA algorithms as probabilistic algorithms, *Theoretical Computer Science*, Vol.287, 2002, pp.59-71.

J. A. Rose, R.J. Deaton, M. Hagiya, A. Suyama: An Equilibrium Analysis of the Efficiency of an Autonomous Molecular Computer, *Physical Review E*, Vol.65, No.2-1, 2002, 021910, pp.1-13.

Hiroki Uejima, Masami Hagiya and Satoshi Kobayashi: Horn Clause Computation by Self-Assembly of DNA Molecules, *DNA Computing, 7th International Meeting on DNA-Based Computers, DNA7, Tampa, FL, USA, June 2001, Revised Papers*, 2002, pp.308-320.

John A. Rose, Russell J. Deaton, Masami Hagiya, and Akira Suyama: The Fidelity of the Tag-Antitag System, *DNA Computing, 7th International Meeting on DNA-Based Computers, DNA7, Tampa, FL, USA, June 2001, Revised Papers*, 2002, pp.138-149.

John. A. Rose, Russell J. Deaton, Masami Hagiya, and Akira Suyama: PNA-mediated Whiplash PCR, *DNA Computing, 7th International Meeting on DNA-Based Computers, DNA7, Tampa, FL, USA, June 2001, Revised Papers*, 2002, pp.104-116.

Masami Hagiya and Azuma Ohichi: *DNA Computing, 8th International Meeting on DNA-Based Computers, DNA8, Sapporo, Japan, June 2002, Revised Papers*, Lecture Notes in Computer Science, Vol.2568, Springer-Verlag, 2003.

浅沼浩之（東京大学・先端科学技術研究センター）

DNA の二重鎖あるいは三重鎖の形成と解離が、特定波長の光照射のみで自在に制御できれば、分子マシンの光制御が期待できる。我々は DNA のダイナミックな形態変化を引き起こすことを目的とし、本年度は光照射により構造異性化する有機分子＝アゾベンゼンを DNA に化学的に導入した化学修飾 DNA を合成した。アゾベンゼンは、D-threoninol をリンカーとして使用して対応するアミダイトモノマーを化学合成し、DNA 合成機によって鎖中に導入した。アゾベンゼンをアミダイトモノマー化することで、これを DNA 鎖中の任意の位置に導入することが可能となった。得られた化学修飾 DNA は、アゾベンゼンが *trans* 体の場合には DNA 二重鎖が安定化するが、UV 光照射で *cis* 体に異性化すると大きく不安定化し二重鎖が解離することを見出した。アゾベンゼンの *trans-cis* 異性化は完全に可逆的であり、可視光照射により *cis*-アゾベンゼンは再び *trans*-体に異性化し、それに伴って DNA 二重鎖が再び形成された。以上のように、アゾベンゼンを DNA 鎖中に導入することで、二重鎖（あるいは三重鎖）の形成と解離の光制御が可能なることを見出した。現在アゾベンゼン導入 DNA を用いた分子マシンの光制御を検討中である。

X. Liang, H. Asanuma, M. Komiyama, "Photo-Regulation of DNA-Triplex Formation by Azobenzene" *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 1877-1883.

H. Asanuma, D. Tamaru, A. Yamazawa, M. Liu, M. Komiyama, "Photo-Regulation of Transcription Reaction by T7 RNA Polymerase by Tethering an Azobenzene in the Promoter"

CHEMBIOCHEM. **2002**, 786-789.

H. Asanuma, M. Liu, D. Tamaru, X. Liang, M. Komiyama, "Photo-regulation of transcription by RNA polymerase with azobenzene-tethered promoter", *Nucleic Acids Res. Suppl.* **2**, **2002**, 75-76.

H. Asanuma, K. Shirasuka, M. Komiyama, "H-Aggregation of Methyl Reds by the Hybridization of DNA-Dye conjugates", *Chem. Lett.*, **2002**, 490-491.

H. Asanuma, T. Takarada, K. Shirasuka, M. Komiyama, "DNA-Dye conjugates for controllable H* aggregation" *J. Am. Chem. Soc.* *in press*.

浅沼浩之 “DNA の光機能化“ 高分子、印刷予定

村田智（東京工業大学・大学院総合理工学研究科）

分子の自己組織的集合による大域的構造形成の手法の確立を目指して、均質な素子が局所的な相互作用により一定の形態を形成するモデルの研究を行った。このモデルは、各素子を同じ性質を持つ質点としてあらわし、一定近傍半径内の他の素子と仮想バネによって力学的に相互作用させるものである。仮想バネの性質（ばね乗数、自然長、存在確率）をばね両端の素子に結合しているほかの素子の数（結合数）によって変化させることにより、望みの形態を自己組織的に組み立てることができることを2次元シミュレーションによって確認した。今後は、DNAタイリングなど、より実際の分子に近い形式のモデル構築およびより複雑な形状の組み立てについて検討する。

藤林健一, 村田智, 菅原研, 山村雅幸: 仮想バネモデルによる自己組織的フォーメーション形成, 第8回創発システム・シンポジウム資料, 95/96 (2002).

K.Fujibayashi, S.Murata, K.Sugawara, M.Yamamura: Self-Organizing Formation Algorithm for Active Elements, Proc. 21st IEEE Symposium on Reliable Distributed Systems, 416/421 (2002).

岩崎裕・吉信達夫（大阪大学・産業科学研究所）・西川明男（大阪電気通信大学）

大阪大学産業科学研究所の岩崎を中心とするグループは、平成14年度には、分子計算の技術を活かして、生体分子の自己組織化の研究を行うための基礎となる技術を検証し、観察可能な形で生体分子を固体表面に固定する方法を開発した。

大阪大学のグループには、既にマイカやシリコン酸化膜の表面に吸着されたタンパク質などの生体分子を原子間力顕微鏡などによって観察する技術やシリコンの表面などにシリコン酸化膜の微細パターンを形成する技術があった。本年度は、微細なシリコン酸化膜形成能力を更に改良した上で、両者の技術を融合させて、生体分子の自己組織化のための良いテンプレートを作ることを目指した。具体的には、シリコン表面上に形成した微細構造を起点として、 γ -アミノプロピルトリエトキシシラン(γ -APTES) およびグルタルアルデヒドをリンカーとして生体分子を選択的に固定し、それを観察する方法を研究した。その結果、サブミクロンスケールでシリコン上のパターンに選択的に分子を固定することに成功した。(図1参照)

しかしながら、現時点では、DNA固定や生体分子が固定されたパターンのナノレベルへのスケールダウンにはまだ成功していない。平成15年度には、これらの課題への取り組みを開始する。

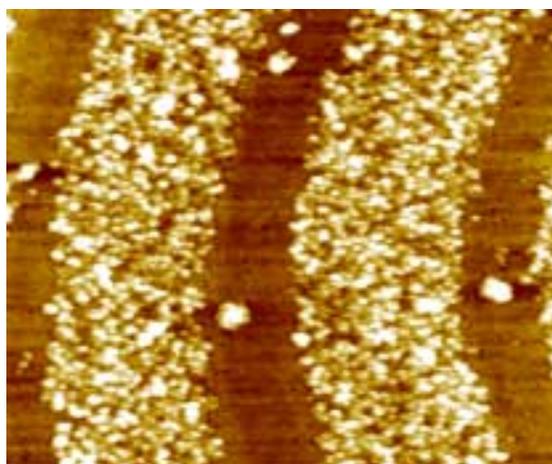


図1:シリコン上にシリコン酸化膜パターンを形成し、シリコン上のみタンパク質が固定されていることをとらえた原子間力顕微鏡画像(2.1×2.1 μm^2)

W. C. Moon, T. Yoshinobu and H. Iwasaki: "Enhanced nano-oxidation on a SC1-treated Si surface using atomic force microscopy", Jpn. J. Appl. Phys. vol.41, pp.4754-4-757, 2002.

T. Yoshinobu, J. Suzuki, W. C. Moon, H. Kurooka and H. Iwasaki: "AFM Fabrication of Oxide Patterns and Immobilization of Biomolecules on Si Surface", 53rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry 4th International Symposium on Electrochemical Micro- and Nanosystem Technologies, Dusseldorf, Germany, 15 - 20 September 2002. (投稿中)

A. Nishikawa, H. Kurooka, S. Antoranz Contera, W.C. Moon, T. Yoshinobu and H. Iwasaki: "Towards DNA patterning on silicon surface--consideration on basic methods--", Preliminary proceedings of Eighth International Meeting on DNA Based

Computers(DNA8), p.334, Hokkaido Univ. , Sapporo, Japan, 10-13 June 2002.

西川明男:「分子計算の現状--DNA8の話題から」, Computer Today, 第19巻5号, (9月号 No.111) pp.17--21, 2002.

陶山明 (東京大学・大学院総合文化研究科)

汎用型を目指した最初のDNAコンピュータがハイブリッドDNAコンピュータである。その分子計算部では、データを表現するためのDNA分子の塩基配列として、正規直交配列のビット列が用いられている。正規直交配列は、同一の長さ、一様な融解温度とPCR増幅効率をもち、ミスハイブリやミスプライミング、そして安定な自己2次構造を形成しないという性質をもつ塩基配列である。正確な計算反応が行えるか否かはこの正規直交配列の性能に依存する。また、大規模な計算反応を行うためには十分な数の正規直交配列が必要である。そこで、実験によりその性能が評価された300個程度の正規直交配列を開発することを目標にして研究を進めた。まず、陶山研でこれまで用いていた方法を改良し、電子コンピュータにより一層効率よく正規直交配列の設計が行えるようにした。NN法により計算された融解温度、ハミング距離や最大連続一致長を指標として、効率の良いエンジンにより発生された塩基配列から互いに正規直交する配列の集合を生成し、その後にDPによる2次構造計算を行い、集合の中からさらに性能のよい配列を選択するという方法で設計を行った。DNAチップを用いたハイブリダイゼーション実験により、ハミング距離8以上、最大連続一致長7塩基以下にする必要があることがわかったので、そのような条件で設計を行ったところ、約500個の23塩基長の正規直交配列を設計することができた。この数は同じ条件でテンプレート法を用いて設計した場合の数の約2倍であった。300個の正規直交配列について融解温度とアニーリング効率の測定、120個の正規直交配列についてDNAチップを用いたハイブリダイゼーション実験、正規直交配列を2つ連結して生成した600個の2桁のDNA符号化数についてPCR増幅効率を測定する実験を行ったところ、設計された正規直交配列が十分な正規直交性を有していることが確認された。

ハイブリッドDNAコンピュータで正確な計算を行うことができるか否かを評価するために、DNA計算で実際に解かれた三和積命題論理式の例題としては最も節の数の多い10変数43節の例題を解く実験を行った。ハイブリッドDNAコンピュータの分子計算部のCPUが備えている基本命令を実行する際の効率とエラー率を最適化したのち、計算に必要なDNAの量を大幅に減らすために開発されたDPのアルゴリズムを実装したプログラムをハイブリッドDNAコンピュータで走らせた。計算結果をシーケンシングにより確認したところ、109クローン中105クローンが正しい解であることがわかった。誤った解をもつ4つのクローンでも、誤りはそれぞれ1箇所だけであることがわかった。この実験は、DPのアルゴリズムで具体的な例題を解くDNA計算を実際に行った最初の例である。

J. A. Rose, R. J. Deaton, M. Hagiya, and A. Suyama: Equilibrium Analysis of the Efficiency of an Autonomous Molecular Computer. *Phys. Review E*, **65**, Article 02910, 1-13 (2002).

- J. A. Rose, M. Hagiya, R. J. Deaton, and A. Suyama: A DNA-based in vitro Genetic Program. *J. Biol. Phys.*, **28**, 493-498 (2002).
- J. A. Rose, R. J. Deaton, M. Hagiya, and A. Suyama: PNA-mediated Whiplash PCR. *LNCS Vol. 2340*, 104-117 (2002).
- J. A. Rose, R. J. Deaton, M. Hagiya, and A. Suyama: The Fidelity of the Tag-Antitag System. *LNCS Vol. 2340*, 138-149 (2002).
- A. Suyama: Programmable DNA computer with application to mathematical and biological problems. *Preliminary Proc. of The Eighth International Meeting on DNA Based Computers*, p. 91 (2002).
- N. Nishida, M. Wakui, Y. Hatta-Ohashi, T. Tokunaga, and A. Suyama: Highly specific and quantitative gene expression profiling based on DNA computing. *Preliminary Proc. of The Eighth International Meeting on DNA Based Computers*, p. 79 (2002).
- J. A. Rose, M. Takano, and A. Suyama: A PNA-mediated whiplash PCR-based program for in vitro protein evolution. *Preliminary Proc. of The Eighth International Meeting on DNA Based Computers*, pp. 5-18 (2002).
- N. Morimoto, M. Kiyohara, N. Sugiura, S. Karaki, T. Nakajima, T. Makino, N. Nishida, and A. Suyama: Automated processing system for gene expression profiling based on DNA computing technologies. *Preliminary Proc. of The Eighth International Meeting on DNA Based Computers*, p. 331 (2002).
- T. Nakajima, Y. Sakai, and A. Suyama: Solving a 10-variable 43-clause instance of 3-SAT problems on DNA computer automatically executing a basic instruction set. *Preliminary Proc. of The Eighth International Meeting on DNA Based Computers*, p. 332 (2002).
- 陶山明: ハイブリッドDNAコンピュータのハードウェア. *電気学会誌*, **122** (3), 160-163 (2002).
- 陶山明: DNAコンピュータの現状と将来. *Computer Today No. 109*, 11-16 (2002).
- 陶山明: 実用化されはじめたDNAコンピューター. *日経サイエンス 5月号*, 114 (2002).
- 陶山明: 分子生物学の教科書に隠されていたDNAコンピュータ. *細胞工学*, **21** (11), 1346-1349 (2002).
- 陶山明: 超並列コンピュータの誕生: エーデルマンの実験. *細胞工学* **22** (1), 75-79 (2003).
- 陶山明: 汎用型DNAコンピュータを目指して. *細胞工学* **22** (3), 348-352 (2003).

藤井輝夫・山本貴富喜 (東京大学・生産技術研究所)

微小流路内における DNA ハイブリダイゼーション反応への応用可能性を検討するため、空気圧駆動によって、液滴プラグ(液滴)を操作するシリコン樹脂製マイクロチップ(3 cm x 4 cm)と、液体インキュベーション用の ITO(Indium Tin Oxide)製ヒータ構造をもつガラス基板(9 cm x 5 cm)からなるマイクロ生化学システムを構築し(図 2)、その評価実験を行った。評価実験では、蛍光染色された 1 本鎖(56 mer)およびその相補鎖の液滴 (容量:300 pL 以下)(DNA 濃度:1 pmol/ mL)を、生成し、両液滴を合体・混合させた。両液体プラグの接触面において蛍光強度のピークが確認できることから、本マイクロ生化学システムが、ハイブリダイゼーション反応へ応用可能であることが確認できた。現状での課題としては、蒸発による液体プラグ内の DNA の濃度変化と、蛍光色素の消光および微小流路壁面への吸着が確認されているので、今後の検討を要する。

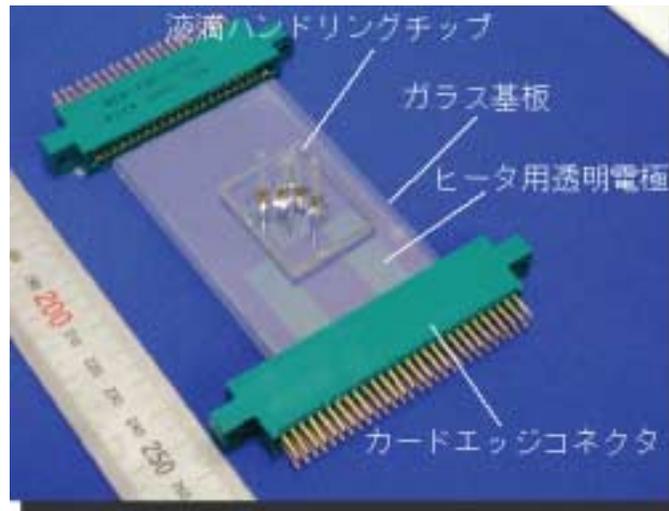


図 2: 微小液体プラグ操作マイクロ生化学システムのデザイン

Takatoki Yamamoto , Teruo Fujii and Takahiko Nojima: "PDMS glass hybrid microreactor array with embedded temperature control device. Application to cell-free protein synthesis", Lab on a Chip, 2, 197 – 202, 2002.