

## 研究課題別評価

### 1. 研究課題名 濃度制御に基づくDNA コンピューティング

### 2. 研究者氏名 山本 雅人

ポスドク研究員 亀田 充史 (研究期間 2001.4.1 ~ 2003.9.30)

ホスドク研究員 中津川 雅史 (研究期間 2003.4.1 ~ 2003.9.30)

### 3. 研究の狙い：

本研究では、これまでの DNA コンピューティングが抱える問題のブレークスルーとなりうる濃度制御手法を提案する。本手法は、DNA の本来持つ性質の一つである溶液性(水の中で数多くの分子が存在すること)に焦点をあて、DNA 分子の濃度を制御することで、目的とする DNA 配列(ターゲット DNA)の生成濃度を高くすることを期待するものである。具体的な例として、最短経路問題を取り上げ、DNA コンピューティングの実験過程について、シミュレーションによる分析、分子化学的実験とともに本手法の確立を目指す。ここでの狙いは、新しい濃度という概念を計算に持ち込むと同時に、対象とする問題のサイズを大きくすることを目的とし、個々の実験操作それぞれについて、計算精度や計算時間といった観点から見直しを行うことである。現在の技術における限界的な規模の問題を扱うことで、現在の技術の問題点や限界が見え、それらを解決していくことで最終的なスケールアップを狙う。

### 4. 研究結果：

本研究での主な研究成果は以下の通りである。

#### (1) ハイブリダイゼーションに基づく最短経路問題の解法アルゴリズムの提案

濃度制御 DNA コンピューティングでは濃度の大きな DNA 分子がハイブリダイゼーションにおいて、より反応に関与することを利用して最短経路問題を解く。濃度制御によって有望な解を表現する DNA のみを生成することになるが、解の抽出段階において同じ長さを持つ DNA を分離する必要があった。本研究では、そのために変性剤濃度勾配ゲル電気泳動(DGGE)、及び、変性剤定濃度ゲル電気泳動(CDGE)を利用した分離手法の提案を行い、有効性の検証を実験によって行った。また、DGGE、CDGE 法を適用する際、GC クランプと呼ばれる G と C のみからなる長さ 30 の配列をプライマーに付加して分離を行った結果、分離精度の向上が見られることがわかった。

また、ハイブリダイゼーション過程によって生成される様々な種類の DNA 結合体の濃度を予測するシミュレーションモデルを構築し、シミュレータ開発を行った。シミュレーションのパラメータ調整をする際に、ハイブリダイゼーションによる経路生成が温度スケジュールと密接な関係にあることがわかり、さらなる検討が必要であることがわかった。本研究では、サーマルサイクラーを用いて温度管理を正確に行い、かつ、温度の下げ方を早くした方がミスハイブリダイゼーション等、望まない反応が起きないことを明らかにした。このような条件の下で、単純な構造を持つグラフを対象とした最短経路問題を解くことでパラメータ調整を行い、実験結果との一致が見られた。

#### (2) 塩基配列設計手法の確立

DNA コンピューティングにおける計算精度の向上を目指した場合、塩基配列設計は大きな課題の一つである。これまでの塩基配列設計は、ミスハイブリダイゼーション(望まない二本鎖形成)し

ないために、塩基配列間のずらしを考慮したハミング距離を一定以上に保つ配列を求める最適化問題に帰着して設計する手法が一般的であった。しかしながら、この方法では比較的安定な構造として知られているバルジループ構造をとる DNA の影響を考慮していないため、DNA 塩基配列の正しい評価ができない。本研究では、ループの部分の塩基が一つであるシングルバルジループ構造の安定性について検討した。具体的には、シングルバルジループ構造をとる DNA の融解温度 ( $T_m$ ) を予測するために、Nearest-Neighbor モデルの拡張を行い、バルジループ部分配列の自由エネルギーを実験データに基づいて算出することを行った。本研究では、バルジ部分の位置による影響をなくすために、バルジ部分が配列の真ん中にある場合について、部分配列の自由エネルギーの算出を行った。部分配列の種類、すなわち、算出する自由エネルギーの値は全部で 64 種類あり、それらのすべてについて算出を完了した。この結果を利用することでバルジループ構造をとる可能性のある DNA 塩基配列の安定性について、融解温度の予測を利用することにより評価が可能となることが期待される。

また、DNA の片側の末端部分が固相上に固定されていた場合に、固定されていない場合と比較して、バルジループ構造をとる DNA の安定性が変化することを示し、固相上での DNA のハイブリダイゼーション反応を利用する DNA コンピューティングモデルを扱う際に注意が必要であることを実験によって示した。さらに、塩基配列設計を最適化問題に帰着して行う場合、厳しい制約条件を満たす配列集合を求める際に 2 段階の探索を行う方法を提案しその有効性を示した。

### (3) ライゲーション、及び、カイネーション反応の精度分析と時間短縮

ライゲーション反応(DNA 鎖の継ぎ目を結合させる酵素反応)において、ライゲーション反応時間と反応効率との関連を調べた。具体的には、ライゲーション時間を 10 秒から 20 時間程度まで変化させ、ライゲーション反応が実際に起こっているかを経路生成の問題に帰着させて測定した。その結果、ほぼ数秒でライゲーション反応の 90% 以上が終了しており、その後はゆっくりと反応が進んでいることが確認できた。また、ライゲース(酵素)の量による影響もかなりあることがわかった。この成果により、DNA コンピューティングにおける計算(反応)時間を大幅に縮める可能性を確認できた。

### (4) 化学反応の信頼性向上のための実験パラメータ調整手法の理論構築とツール開発

DNA コンピューティングにおいて計算の精度を向上させることは、化学反応が望み通りに実行され、再現性を高めることと捉えることができる。従来、化学反応の実験プロトコルは経験に基づいて構成されてきたものが多い。本研究では、実験計画法に基づいた品質工学的手法による実験パラメータの設計、分析手法を提案し、実験の再現性に基づいた信頼性尺度を導入し、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)における有効性を示した。また、実験データが徐々に蓄積されていく中で、これまでのデータをすべて用いることによって適切な実験パラメータ設定を出力可能な支援手法の提案を行った。すなわち、実験データの追加によって動的に最適プロトコルの変更が可能となる。本手法には、Mahalanobis Taguchi System (MTS) を利用した新しいパラメータ調整の理論構築を行った。また、実験計画法に基づいたパラメータ調整についても理論構築を行い、実験の信頼性向上のためにどのパラメータの影響が大きいのかといった分析が可能となった。これらの手法を利用するためのツール開発を行った。

### (5) 状態遷移 PCR による最短経路問題の解法アルゴリズムの提案

濃度制御 DNA コンピューティングの新しい計算モデルとして、状態遷移型 PCR(State Transition PCR(ST-PCR))を用いて最短経路問題を解く手法を提案した。本手法は現在の状態を

保持する状態分子と状態遷移を行うための状態遷移分子を用いて、状態分子の反応を制御する。本研究で提案したモデルでは、状態遷移分子の濃度を制御することで、溶液中に存在する状態分子の濃度を制御し、並列的局所探索が可能となる。このような状態遷移型 PCR モデルの実現可能性について検討した。この状態遷移モデルを利用して最短経路問題の解法アルゴリズムを提案し、11 頂点の問題について適用した。また、状態遷移分子の 3' 末端側のポリメラーゼ伸長が起きないように、3' 末端側を修飾する手法について検討した。また、状態分子、状態遷移分子の塩基配列の長さの検討を行った。

#### 5. 自己評価：

研究開始時においては、濃度制御 DNA コンピューティングによって最短経路問題を解くアルゴリズムを提案し、問題のスケールアップを狙うことで DNA コンピューティングが抱えるいくつかの問題を明らかにし、それらの解決を試みることを考えて研究を行ってきた。その中で、小規模な問題でさえも予想外に多くの問題が存在することが徐々にわかってきた。そこで、解ける問題の大規模化を中心に据えるよりも、もっと根本的な DNA の性質や化学反応の特性、といった点に重点をおいて研究を進めた方が良いと考え、化学反応の正確な制御をより中心的な課題として研究を行ってきた。本研究で得られた成果は DNA コンピューティングの分野のみならず、バイオテクノロジーや DNA ナノテクノロジーなどの生体分子を正確に制御する必要のある多くの分野において、広く今後も利用可能となる有用な知見を得たと考えられる。

例えば、バルジループ構造をもつ DNA の安定性を正しく評価するための手法や、化学反応を安定化させるためのパラメータ調整手法の構築などは、地味な研究ではあるが有用な成果であると考えている。また、3 年間の研究遂行上、ポスドク研究員の参加は不可欠であった。情報工学出身の研究者にとって、分子生物学専門のポスドク研究員は、実験に関する細かいアドバイスや実験遂行はもちろんのこと、日々の実験室のメインテナンスや消耗品の購入といった様々な仕事に関して協力を得られた。

#### 6. 研究総括の見解：

エーデルマンによって提案された DNA のハイブリダイゼーションを利用するコンピューティングは、溶液の中での化学反応が計算に対応するので、ニューラルネットワークの弱点であるニューロン間の配線の多さを解決することができる有利さがある。このコンピューティング法が将来の発展性があるかについて、本研究者は、DNA 初期濃度を制御することにより、システムにバイアスがかかる方法を提案し、正解をより得易くすることに成功したことは評価される。またこの研究を遂行する上で、DNA 分子反応の制御に関するいくつかの新しい知見を得たことは評価できる。この段階では最大問題であるスケールアップに対する見通しが得られていないが、期間終了後も研究を継続してこの点が明らかになることを期待したい。

#### 7. 主な論文等：

##### 論文

1. Masahito Yamamoto, Atsushi Kameda, Nobuo Matsuura, Toshikazu Shiba, Yumi Kawazoe and Azuma Ohuchi: Local Search by Concentration Controlled DNA Computing, The International Journal of Computational Intelligence and Applications (IJCIA), Vol. 2, No. 4, pp. 447-455

(2002)

2. Atsushi Kameda, Nobuo Matsuura, Masahito Yamamoto and Azuma Ohuchi: An Analysis of Computational Efficiency on DNA Computing, Proceedings of 3rd International Conference on Unconventional Models of Computation (UMC' 02), pp. 191-198 (2002)
3. Masahito Yamamoto, Atsushi Kameda, Nobuo Matsuura, Toshikazu Shiba, Yumi Kawazoe and Azuma Ohuchi: A Separation Method for DNA Computing Based on Concentration Control, New Generation Computing, Vol. 20, pp. 251-261 (2002)
4. Masahito Yamamoto, Jin Yamashita, Toshikazu Shiba, Takuo Hirayama, Shigeharu Takiya, Keiji Suzuki, Masanobu Munekata and Azuma Ohuchi: A Study on the Hybridization Process in DNA Computing, DNA Based Computers 5, DIMACS Series 54 in Discrete Mathematics and Theoretical Computer Science, pp. 101-110 (2000)

他 26 件

#### 解説

1. 山本 雅人 ,柴 肇一 ,大内 東 : DNA コンピューティングパラダイム-その原理と工学応用への課題 ,システム / 情報 / 制御 , Vol. 46, No. 5, pp. 260-268 (2002) (解説)

他 1 件

#### 著書

1. 大内東 ,山本雅人 ,川村秀憲 ,他 ,相互作用科学シリーズ , '生命複雑系からの計算パラダイム' ,森北出版 ,(2003)

他 1 件

#### 国内発表

計 7 件