

情報社会を支える新しい高性能情報処理技術  
平成13年度採択研究代表者

萩谷 昌己

(東京大学大学院情報理工学系研究科 教授)

## 「多相的分子インタラクションに基づく大容量メモリの構築」

### 1. 研究実施概要

本課題では、複数種類のインタラクションを組み合わせた多相的分子インタラクションによる新しい分子コンピューティングの可能性を探究するとともに、その具体的な応用として、分子メモリの実現方法、特に別々のアドレスを持ったメモリ分子を個別に参照するための「分子アドレッシング」の技術の開発を行っている。

新しい分子コンピューティングの可能性の探究に関しては、ヘアピン構造が逐次的に開裂することによって状態が遷移するDNA分子機械の設計方法を開発し、以下で述べるように分子アドレッシングの高速化に応用した。また、DNA配列の長さのみに依存する自律的計算系の提案を行うなど、分子コンピューティングの理論モデルに関する研究を進めた。

分子アドレッシングに関しては、DNAメモリのアドレスとして用いる300本の正規直交配列の設計を行い、実証実験によってその信頼性を検証した。最終的に600本から成る正規直交配列の実装を目指している。

正規直交配列を応用して巨大なアドレス空間を実現するにはアドレスを階層化することが必要であり、さらに階層化されたアドレスを高速に参照する方法が求められる。本課題では、アドレスの階層化の可能性を実証するためにNPMM (nested primer molecular memory) の構築を行っている。今年度においては3階層3配列の階層型メモリNPMM (計27アドレス) を構築し、そのアドレッシングが可能であることを実験によって示した。また、各階層での増幅の過程を変性剤濃度勾配ゲル電気泳動によって観測し、大規模化への問題点を明らかにした。階層的なアドレッシングの高速化に関しては、Whiplash PCRを利用した方式や、ヘアピン構造が逐次的に開裂することを利用したconformational addressingの方式を開発した。また、アドレッシングをさらに高速化するために、光による形態変化を利用した分子アドレッシングの研究を進めている。

以上は液相における分子アドレッシングの技術であるが、本課題では、固相上の固定された分子をアドレスする技術の開発も行っている。具体的には、光アモルファスDNA分子メモリの開発を行っている。このメモリは、DNA分子を赤外線吸収層をもつ基板表面上に高密度、無定形に配置したDNA分子メモリである。赤外光とDNA分子反応を利用してアドレッシング、データの読書き消去と転送を行う。光によるマイクロメートルスケールでのアド

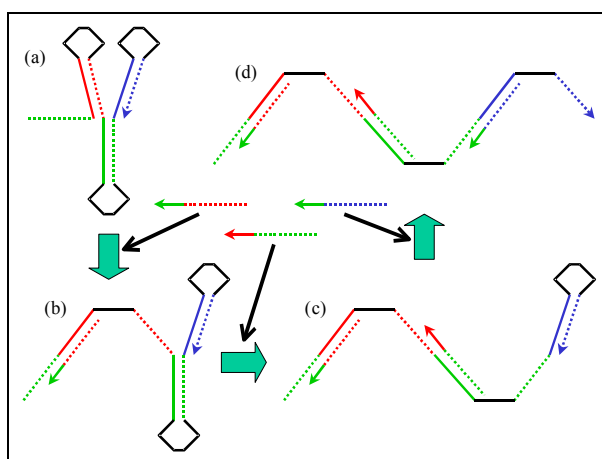
レシニングに加えてDNA分子反応によるナノメートルスケールでのアドレッシングを行うことにより、記憶密度を飛躍的に高めることが可能になる。半導体メモリとは異なり、DNA分子データに対する直接的インターフェースを有するので、DNAコンピューティングによる生体情報解析やプログラム可能なナノアSEMBルを行うためのメモリデバイスとしての利用が可能である。今年度は、光アモルファスDNA分子メモリの構造単位である正規直交配列を含むヘアピンDNA分子の設計、メモリ構造単位をひとつもつDNA分子メモリの読み書き消去の実験、赤外線吸収層をもつアモルファスDNA分子メモリの試作、レーザー光分布制御によるビーズ結合DNA分子群の並列輸送および分子メモリ基板上的局所的溫度制御方法を用いたデータ転送の原理の確認などを行った。

## 2. 研究実施内容

### ●萩谷グループ

新しい分子コンピューティングの可能性の探究に関しては、ヘアピン構造が逐次的に開裂することによって状態が遷移するDNA分子機械の設計方法を開発し、階層的なアドレスの参照の高速化に応用した。

提案した分子機械においては、単一のDNA分子が連続して2つ以上のヘアピン構造を形成する(図(a))。連続したヘアピン構造のうちsticky endに隣接するヘアピン構造のみが、sticky endとstemに相補的なDNA分子によって開裂する(図(b))。他のヘアピン構造は、隣のヘアピン構造が開裂した場合のみ、そのstemが一本鎖になるため逐次的に開裂することができる(図(c))。個々のヘアピンが一桁のアドレスを表しているとする、複数のアドレスを持つ分子を逐次的なヘアピン開裂により一回の反応で参照することができる。この仕組みをconformational addressingと呼んでいる。



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た。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た。そのため、より熱力学的に適した配列の設計が可能となった。以上の二次構造設計方法をC言語プログラムとして実装し、大内グループと共同で設計した配列を用いて実証実験を行った。

また、光による分子機械の制御を目指して、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。

一方、DNA分子が逐次的かつ自律的に形態変化を起こす「WPCR(whiplash PCR)」を用いたアドレス参照法について検討した。1) 分子メモリを大容量化するために不可欠な「アドレスの階層化」に向けて、WPCRによる多段階の形態変化について反応条件を最適化した。反応効率の向上と、演算のエラーにつながるバックグラウンドの低減に成功し、各段階での形態変化の効率を定量的に評価した。2) 分子メモリから特定のアドレスを持つ分子の情報だけを読み出し、その後の情報処理を可能にする手法について検討した。適切な短鎖DNA分子を用いて、分子間での相補鎖認識を利用して形態変化を起こす入出力法について、反応温度やDNA分子の長さが与える影響について評価した。これらの実験データをもとに、WPCRを用いた分子メモリの容量や処理速度について見積もりを行った。

#### ●横森グループ

理論モデルの観点から、多相的分子インタラクションによる新しい分子コンピューティングの可能性の探究を進めた。研究実績の概要は以下の2つに分類される。

- (1) 自律的計算系の解析と設計： DNA配列の長さのみに依存する自律的計算系の提案を行った。すなわち、自律的計算系において長さのみによる分子配列の設計法を探究し、有限オートマトンやDHPPなどがそのような簡単な設計によっても解決されることを示した。またDNAを用いた計算モデルである挿入・削除システムにおいてこのシステムが理論的に万能性を保持しながらどこまで簡約化できるかを探究し、認識部位および挿入・削除記号列の長さが共に1まで簡約化が可能であることを示した。認識部位から数塩基離れた位置でDNA二重鎖を切断する特殊な制限酵素と環状DNA鎖を用いた新しいDNAコンピュータの方式について考案し、そのモデルの数学的解析を行った。その結果、計算モデルが万能計算能力を有することを明らかにし、また文脈自由文法などを用いた構文解析問題も効率よく解くことを示した。さらに、転写、翻訳、代謝などの細胞内分子反応メカニズムを用いた新たな分子計算方式の可能性を検討した。構造分子の設計・解析のための理論を構築することを目標として、配列設計の問題に着手した。ハミング距離等をベースとした配列設計の理論では、配列の高速な評価が行えるため、比較的大きな配列空間を対象として、実験要求に適合する配列セットを探索することが可能である。しかしながら、構造分子の設計ハミング距離等では、バルジループや内部ループ等の二次構造形成に対処することが難しい。そこで本研究では、ハミング距離等をベースにした設計手法で得られた配列セットから、次構造をできるだけ形成しない配列セットを抽出するための手法を考案した。
- (2) 並列計算系による分子計算シミュレータの設計と試作：分子計算系における局所的並列性をシリコン上で実装するために、ノードの多重集合、膜とその階層化、リンク、グラフ変換の四概念に基づく新たな計算モデル LMNtal の設計に着手し、基

本設計をほぼ完了した。また、Java を用いて試作処理系のコンパイラとランタイムを実装した。LMNtal は多重集合や会合概念をもった数多くの計算モデルの統合、リソースコンシャスな計算の基本モデルなどを目指したモデルであり、今年度は上記に加えて他の計算モデルとの比較検討も進めた。

#### ●大内グループ

Nested Primer Molecular Memory (以下、NPMMと呼ぶ)は、塩基配列でコードされたデータ部とデータ部の両端に階層的に付加されたアドレス部からなるものである。データ部を読み出すためにはプライマー対を指定してPCR増幅を行うため、プライマー対とその適用順番がアドレスに相当する。本年度は、NPMM の実現可能性についての検討、及び、実現の際の問題点を明確化することを目的として具体的な実験を行った。

3階層3配列(各階層のアドレス部が3種類で3階層)のNPMMを人工合成DNAによって、27種類(3×3)のメモリを作成した。そして、27種類のアドレスから任意の2種類のアドレスに対して、適切なデータのみが取り出し可能であることを示した。また、各階層でのアドレッシング後の溶液について、どのデータが存在するかを濃度勾配ゲル電気泳動(DGGE)を用いて分離することで解析し、各Nested PCR後の溶液として適切なデータを含むメモリ分子のみが存在していることを示した。また、アドレッシングのためのプロトコルの最適化について検討し、さらなる大規模化(数千～数万のオーダーのデータ数)への見通しがたった。また塩基配列設計における制約条件について検討し、設計可能な塩基配列数とデータ数の関係について考察した。

また、萩谷グループと共同でヘアピン開裂を利用した分子アドレッシングに関する基礎実験を行った。ヘアピン構造が比較的安定な構造となるような塩基配列を設計し、インプット・オリゴマーを溶液中に順番に投入することにより、適切にヘアピン開裂が起こりヘアピン構造が壊れるという順序性を満たすこと、及び、ヘアピン開裂が適切なインプット・オリゴマーによってのみ開裂し、それ以外のオリゴマーを溶液中に投入してもヘアピン構造が壊れないという選択性を満たすことを実験によって示した。以上から、ヘアピン開裂を利用した分子アドレッシングの実現が可能であることがわかった。

#### ●陶山グループ

正規直交配列の設計と実装を行うとともに、光アモルファスDNA分子メモリの開発を目的とする。今年度は以下のような研究成果が得られた。

##### ○正規直交配列の設計と実験による評価

正規直交化配列を含むヘアピン構造単位をひとつもつ連想メモリDNA分子を基板上に一様に固定したアモルファスDNA分子メモリを作製してデータの読み書き消去を試みる実験と、300を超える23塩基長の正規直交化配列の設計とその一部について実験により正規直交性を評価することを行った。

### ○2状態単一ヘアピンDNA分子を用いた分子メモリの読み書き消去の実験

正規直交配列をヘアピン部分にもつ2状態単一ヘアピンDNA分子を調製し、ヘアピンのステム構造の末端部分に導入した蛍光分子によるFRETを利用して、その温度特性を明らかにした。ヘアピンDNA分子のみの融解曲線、ヘアピンDNA分子とデータのDNA分子のハイブリッドの融解曲線などに基づいてデータの読み書き消去を行うための温度と温度パターンの条件を決定した。2状態単一ヘアピンDNA分子を溶液に分散させたDNA分子メモリ溶液を作製し、データの読み書き消去ができることを確認した。また、赤外線吸収色素を塗布した基板表面に2状態単一ヘアピンDNA分子をアモルファスに固定した光アモルファスDNA分子メモリ基板を試作し、赤外レーザー光照射によりデータを読み書き消去を試みた。

### ○VCSELアレイによる光ピンセットでトラップしたマイクロビーズを用いたデータDNA分子群の移動実験

光アモルファスDNA分子メモリ上での光を利用したデータ転送を実現するために、マイクロビーズを用いたデータDNA分子群の輸送方法について検討した。ストレプトアビジン-ビオチン結合を利用してデータDNA分子をビーズに固定し、さらに相補的なDNAをハイブリダイズさせることによりサンプルを調製した。垂直共振型面発光レーザー（VCSEL）を用いた光マニピュレーションにより、複数のビーズの並列輸送に成功した。また、レーザー光（波長633nm）を照射して溶液の温度を局所的に上昇させ、ビーズからDNA分子を解放できることを実証した。これらの結果は、光技術がDNA分子群の位置・反応制御に有効であることを示している。

## 3. 研究実施体制

### 萩谷グループ

- ① 研究分担グループ長：萩谷 昌己（東京大学大学院情報理工学系研究科，教授）
- ② 研究項目：プロジェクト全体の統括・形態変化と位置情報を利用した分子メモリ

### 陶山グループ

- ① 研究分担グループ長：陶山 明（東京大学大学院総合文化研究科・教授）
- ② 研究項目：位置情報を利用した分子メモリ

### 横森グループ

- ① 研究分担グループ長：横森 貴（早稲田大学教育学部・教授）
- ② 研究項目：多相的分子インタラクションの解析と設計のための基礎理論

### 大内グループ

- ① 研究分担グループ長：大内 東（北海道大学大学院工学研究科・教授）
- ② 研究項目：アドレスの階層化に基づいた高信頼性アドレッシングの実現と高速化に関する基礎研究

#### 4. 研究成果の発表

##### (1) 論文 (原著論文) 発表

- 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, 7<sup>th</sup> International Workshop on DNA-Based Computers, DNA7, Tampa, FL, USA, June 2001, Revised Papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2340, 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 Workshop on DNA-Based Computers, DNA7, Tampa, FL, USA, June 2001, Revised Papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, 2002, Vol.2340, pp.138-149.*
- John. A. Rose, Russell J. Deaton, Masami Hagiya, and Akira Suyama:  
"PNA-mediated Whiplash PCR", *DNA Computing, 7th International Workshop on DNA-Based Computers, DNA7, Tampa, FL, USA, June 2001, Revised Papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2340, 2002, pp.104-116.*
- J.A. Rose, M. Takano, and A. Suyama:  
"A PNA-mediated whiplash PCR-based program for in vitro protein evolution", *DNA Computing, 8<sup>th</sup> International Workshop on DNA-Based Computers, DNA8, Sapporo Japan, June 2002, Revised papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2568, 2003, pp.47-60.*
- 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).
- Yusuke Ogura, Nobuhiro Shirai, and Jun Tanida:  
"Optical levitation and translation of a microscopic particle by use of multiple beams generated by vertical-cavity surface-emitting laser array sources", *Applied Optics*, Vol.41, No.27, pp.5645-5654 (2002).
- Takahara and T.Yokomori:  
"On the Computational Power of Insertion-Deletion Systems", *DNA Computing, 8th International Workshop on DNA-Based Computers, DNA8, Sapporo, Japan, June 2002, Revised Papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2568,*

2003, pp. 269–280.

- T.Yokomori:  
"Molecular Computing Paradigm -- Toward freedom from Turing's charm", *Natural Computing*, Vol.4 (1), pp.333–390, Kluwer Academic, 2002.
- Yasubumi Sakakibara and Hiroshi Imai:  
"A DNA-based Computational Model using a Specific Type of Restriction Enzyme", *DNA Computing*, 8<sup>th</sup> International Workshop on DNA-Based Computers, DNA8, Sapporo, Japan, June 2002, Revised Papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2568, 2003, pp.315–325.
- Kazunori Ueda and Norio Kato:  
"Programming with Logical Links: Design of the LMNtal language", *Proc. 3rd Asian Workshop on Programming Languages and Systems (APLAS 2002)*, pp.115–126, 2002.
- Norio Kato and Kazunori Ueda:  
"Sequentiality Analysis for Concurrent Logic Programs", *Proc. 6th World Multiconference on Systemics, Cybernetics and Informatics (SCI 2002)*, Vol.11, pp.329–336, 2002.
- Satoshi Kashiwamura, Masahito Yamamoto, Atsushi Kameda, Toshikazu Shiba and Azuma Ohuchi:  
"Hierarchical DNA Memory Based on Nested PCR", *DNA Computing*, 8th International Workshop on DNA-Based Computers, DNA8, Sapporo, Japan, June 2002, Revised Papers, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2568, 2003, pp.112–123.
- 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).
- Atsushi Kameda, Nobuo Matsuura, Masahito Yamamoto and Azuma Ohuchi:  
"An Analysis of Computational Efficiency of DNA Computing", *Unconventional Models of Computation*, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2509, 2002, pp.191–198.
- Masashi Nakatsugawa, Satoshi Kashiwamura, Masahito Yamamoto, Toshikazu Shiba and Azuma Ohuchi:  
"Towards a High Reliability of the PCR Amplification Process in DNA Computing", *International Journal of Computational Intelligence and Applications*, Vol.2, No.4, pp.423–432 (2002).
- Masahito Yamamoto, Atsushi Kameda, Nobuo Matsuura, Toshikazu Shiba, Yumi

Kawazoe and Azuma Ohuchi:

"Local Search by Concentration Controlled DNA Computing", International Journal of Computational Intelligence and Applications, Vol.2, No.4, pp.447-455 (2002).

○ Fumiaki Tanaka, Atsushi Kameda, Masahito Yamamoto and Azuma Ohuchi:

"The Effect of the Bulge Loop upon the Hybridization Process in DNA Computing", Evolvable Systems: From Biology to Hardware, Lecture Notes in Computer Science, Springer, Vol.2606, pp.446-456 (2003).

(2) 特許出願

1件