

H_019

DNAを用いたタイル構造における接着結合部の塩基配列設計

Sequence Design of Glued connected portion in DNA Tile Structure

飯村直記†
Naoki Iimura山本雅人‡
Masahito Yamamoto田中文昭†
Fumiaki Tanaka亀田充史‡
Atsushi Kameda大内東†
Azuma Ohuchi

1. はじめに

近年、人工的に合成されるDNAを利用した超並列計算やナノテクノロジーの研究が行われている。DNAの塩基にはA・T・G・Cの4種類があり、AとTが結合し、GとCが結合する相補性がある。この相補性を利用することで複数の一本鎖DNAから平面のタイル構造を形成することができる。

タイルによって、より複雑な計算やナノ構造を形成するためには複数種のタイルが必要であり、タイル同士を結合させる糊しろとなる一本鎖DNA(粘着末端)も複数種類必要となる。従来研究では相補な塩基配列とその部分配列の重複を用いた近似的な結合安定性評価によって、半自動的に塩基配列を設計しているが、この手法によって同程度の粘着性がある粘着末端を複数種類設計することは困難であった。

本研究では9本の一本鎖DNAからなり、4方向の粘着末端をもった4×4DNAタイルを対象とし、自由エネルギーを用いた結合安定性予測を用いることで、同程度の粘着性がある粘着末端を複数種設計し、複数種のタイルの塩基配列を設計する方法を提案する。

2. DNAナノ構造と塩基配列設計

DNAは相補な2本の一本鎖DNAが相補結合することにより、1本の二本鎖DNAを形成する。このことを会合もしくはハイブリダイゼーションという。

Winfreeら[1]は複数のDNAを組み合わせてハイブリダイズさせ、DNAによる平面状のナノ構造(DNAタイル)を生成した。個々のタイルは他のタイルと結合するための糊しろとなる一本鎖DNAを有しており、それらが自律的に繋ぎ合わさることでナノ平面を形成することができる。また、Yanら[2]は9本の一本鎖DNAから成り4方向の腕を持った4×4タイルを提案しており(図1)、このタイルを利用した超並列計算などの研究が行われている。

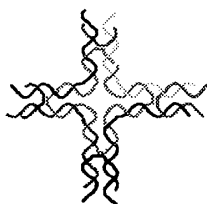


図1. 4×4DNA タイル

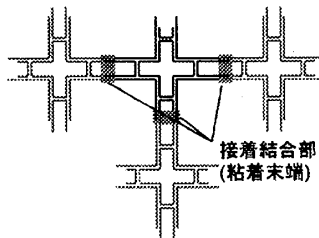


図2. 粘着末端による結合

より複雑な計算やナノ構造を形成するためには、タイルの種類が複数必要となり、そのためにタイル同士が結合する糊しろ部分の塩基配列(AGTCの塩基の並び)を複数種類設計する必要がある。

一般的にDNAタイルの塩基配列設計には、SeemanらによるSEQUIN[3]が用いられるが、この手法は塩基の相補性と塩基の部分列の再使用が少なくなるような塩基配列を半自動的に生成しているに過ぎず、タイル同士の結合安定性を近似的に計算した配列設計となっている。一方、IimuraらはNearest-Neighbor法による自由エネルギーによって、タイルが形成されるとき(非)目的のDNAの結合安定性を計算することで、正確にタイル構造を形成し、その構造が安定で崩れにくくなるようなDNAの塩基配列を設計している。しかしながら、この研究では糊しろ部(粘着末端)の設計については触れられていなかった。

本研究では、後者の研究を拡張し、粘着末端を持った4×4DNAタイルを複数種類設計する手法を提案する。本手法によりタイル間で正確に結合し、その結合が安定となるような塩基配列を複数種設計することが可能となる。

3. 提案手法

本研究では以下の手順で複数種のタイル塩基配列を設計する。

- Step1. 1枚のタイルにおいて必要な数の粘着末端を1セットとし、複数セット設計する。
- Step2. Step1で生成した粘着末端の集合を1つ選択し、その粘着末端を用いて、基幹部分の配列を最適化して設計する。
- Step3. Step2で選択した粘着末端と同程度の粘着性をもった粘着末端集合を選択し、その粘着末端をStep2で設計した基幹部分に付け替える。

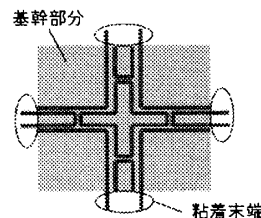


図3. 4×4タイルの概形

3.1 Step1 粘着末端集合の生成

図3のような4×4DNAタイルを設計する場合、粘着末端となる塩基配列が8種類必要となる。この8種類の塩基配列を1セットとし、複数セット設計する。

†北海道大学大学院 情報科学研究科
(札幌市北区北13条西8丁目)

‡CREST, Japan Science and Technology Corporation
(埼玉県川口市本町4-1-8)

ナノ平面を形成する際には、タイル同士が誤りなく結合することが必要であるが、そのためには目的の結合（あるタイルにおける粘着末端と、その相補配列をもつ相手タイルの粘着末端との結合）の安定性が同程度であることが望ましく、また、目的の粘着末端同士の結合安定性の方が、非目的の粘着末端同士の結合安定性よりも安定でなければならない。したがって、同一の集合に含まれる粘着末端は、目的の結合間の自由エネルギーの値の差が小さく、非目的の結合間の自由エネルギーの値のよりも低い値をとる必要がある。以上の点を踏まえて、次の手順で粘着末端の集合を生成する。

- Step I.** 4^l の全通りの塩基配列(AAA, AAT,...GGG)とその相補配列の自由エネルギー(ΔG)を求める。
(l :配列長)
- Step II.** 全配列をStep I で求めた ΔG に従って昇順にソートする。
- Step III.** 昇順にN本の配列を選択する。
(N:粘着末端の必要数)
- Step IV.** Step IIIで選択したN本の配列の組み合わせ（非目的配列間）に対して ΔG を求め、その全てがStep I の ΔG （目的配列間）よりも高ければ集合に入れる。
- Step V.** Step IVの条件を満たさない場合、N本の配列の中から最も ΔG の低い配列を廃棄し、Step IIにおける昇順の中からStep IIIで選択した配列の次に ΔG の低い配列を選択する。
- Step VI.** Step IVに戻る。

DNAの一次構造上、粘着末端の塩基配列の長さは一般的に5塩基であることが多い。このとき図3のようなタイルを設計するときに必要な8本の粘着末端の集合は、上記の手順を用いることにより、810種類生成することが可能である。しかしながら、これらの配列は目的の配列間の ΔG と非目的の配列間の ΔG が僅差であることが多く、両者の結合安定性が同程度であることから誤った結合を引き起こす可能性が高い。

そこでStep4において目的配列間と非目的配列間の ΔG に一定の差がつくように制約を設け、生成される集合数との関係を見ると図4のようになる。

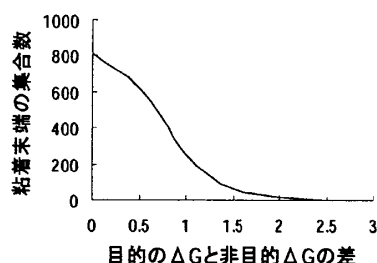


図4. ΔG の差と集合数の関係

ΔG の差の値を大きくすることで生成される集合数は減るが、数十種類であれば、より誤った結合を引き起こしにくい粘着末端が設計可能である。

3.2 Step2 基幹部分の配列設計

本研究では自由エネルギーを用いた粘着末端なしDNAタイル（図3基幹部分）の塩基配列設計[4]を拡張し、粘着末端付DNAタイルの塩基配列を設計する。

まず、Step1で生成した粘着末端集合のうち、同程度の粘着性のある粘着末端の集合によって部分集合をつくる。このとき部分集合の要素数は必要なタイルの種類数となる。この中から1種類の集合を選択する。

タイル全体の塩基配列は、選択された上の集合の粘着末端とランダムに塩基を配置された基幹部分を最適化することで設計する。先行研究では一本鎖DNAの二次構造の自由エネルギー、タイルを形成するときの二本鎖DNAの自由エネルギー、タイルを形成しない誤った二本鎖を形成したときの自由エネルギーの重み付き和を評価関数とし基幹部分のみの最適化を行っているが、粘着末端のあるタイルの塩基配列においても同様の評価関数を用いて基幹部分のみの最適化することができる。

3.3 Step3 複数種類のタイル配列設計

Step2の最適化によって設計された基幹部分に、部分集合における他の粘着末端集合の粘着末端を付け替えることで複数種のタイルを設計する。

まとめ

本研究では自由エネルギーに基づき、DNAタイルにおける複数種の粘着末端設計法を提案した。この手法と最適化による基幹部分の配列設計を組み合わせることで、正確にナノ平面を形成し、その構造がより安定となるようなタイルを複数種類設計することが可能である。

今後はこのアルゴリズムを取り入れたDNAタイル塩基配列設計ソフトウェアを開発すると共に、設計された塩基配列によってうまくナノ平面が形成されるかどうか化学実験によって検証する予定である。

参考文献

- [1] Erik Winfree, Furong Liu, Lisa A. Wenzler and Nadrian C. Seeman, "Design and self-assembly of two-dimensional DNA crystals", Nature, Vol394, 539-544 (1998)
- [2] Hao Yan, Sung Ha Park, Gleb Finkelstein, John H. Reif, Thomas H. LaBean, "DNA-Templated Self-Assembly of Protein Arrays and Highly Conductive Nanowires", Science, vol301, 1882-1884 (2003)
- [3] Nadrian C. Seeman, "DeNovo Design of Sequence for Nucleic Acid Structural Engineering" Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, ISSN0739-1102, Vol8 (1990)
- [4] Naoki Iimura, Masahito Yamamoto, Fumiaki Tanaka, Atsushi Kameda, Azuma Ohuchi, "Sequence Design of Stable DNA tiles", The Twelfth International Meeting on DNA Computing (DNA12), Preliminary Proceedings 262-263 (2006)