

図-2 Adleman の実験 (実際の配列長は 20)

配列に符号化し、頂点 v_i から v_j への有向辺を、頂点 v_i を表す配列の後半部と頂点 v_j を表す配列の前半部を接続してできた配列の相補配列によって表現した。これらの頂点と辺を符号化した配列を 1 つの試験管に混入すると、上に述べた選択的会合により、与えられたグラフ上の道が超並列かつランダムに生成される。リガーゼと呼ばれる酵素によって、会合した配列同士を接合すれば、グラフ上のパスを表す分子ができあがる。この中に、Hamilton パスが存在するかないかを分子生物学的実験手法を利用して判断することにより、Hamilton パス問題を解くことができるが、そこでも DNA 配列が選択的に会合する性質が利用されている。

DNA コンピューティングは、DNA 分子を用いて超並列計算を行うという当初の目的から、徐々にその適用範囲を拡大して他の領域と関係しながら研究が進められつつある。特に情報系の人間にとって興味深いのは、DNA ナノテクノロジーとの関係である。DNA ナノテクノロジーの分野では、1995 年の Feynman prize in nanotechnology の受賞者として知られるニューヨーク大学の Seeman らが DNA の塩基配列を工夫して設計することにより、さまざまな微小構造を形成することに成功している。この分野に情報科学的な考え方を応用しながら取り組んでいるのが、カルフォルニア工科大学の Winfree である。Winfree は、Seeman らとともに DNA で作り上げたタイルを自律的に組織化させることで、平面上にさまざまな意図的な模様を形成することを提案し、着実に研究を進めている。

たとえば、決められたサイズの正方形を自律的に形成することを考えよう。このためには、少なくとも 1 辺の長さに相当する分のタイルの個数をカウントして、それ以上のタイルが会合しないように反応を止める必要がある。つまり、タイルは自律的に会合しながらある種の

計算を行わなければならない。この例は、DNA ナノテクノロジーに DNA コンピューティングが必要となる理由を明示している。つまり、情報科学・工学的考え方が微小構造を形成する反応系の設計に役立つのである。

現在東京大学の萩谷を代表として文部科学省の科学研究費補助金特定領域研究「分子プログラミング」が立ち上がっているが、その研究目的の 1 つは、生体高分子を用いた情報処理を行う反応系の設計論の確立である。その設計問題全体の最も基礎に位置するのが、配列設計の問題である。本稿では、配列設計問題に関する最近の研究について解説する。ただし、個々の実験技術の詳しい説明については、誌面の制約から他の文献に譲る⁵⁾。

●配列設計における制約

DNA コンピューティングでは、計算を行うために、情報を DNA 配列に符号化する。Adleman の実験では、グラフの頂点を DNA 配列に符号化した。ここでは、実験に用いる配列集合 S に対してしばしば要求される制約について考えよう。

配列設計において、最も基本的で一般的な制約は

(1) 溶液中に存在する配列が会合反応により予定外の構造を形成しない

という制約である。予定外の構造を形成する状況は大きく分けて 2 つの場合に分類できる。1 つは、

(1a) 配列が他の配列と会合して予定外の複合体を形成する

場合である。Adleman の実験の例では、頂点を表す配列が互いに類似していたりすると、辺を表す配列と適切に会合せずに辺のないところに道を形成してしまう原因になる。もう 1 つの場合は、

(1b) 配列がそれ自身で予定外の構造を形成する場合である。

Adleman の実験の例では、たとえ道が正確に形成されたとしても、形成された道を表す配列がそれ自身で構造を形成すると、Hamilton パスを分離する実験の過程で障害となる可能性がある。たとえば、配列を増幅する PCR (Polymerase Chain Reaction) の過程では、構造形成が分子の増幅を阻害する傾向があることが知られている。

第 2 の重要な制約は、

(2) 配列の融解温度^{☆2}を適切に設定する

という制約である。配列によって融解温度に差が存在すると、反応生成物の間の生成効率に差が生じることになる。Adleman の実験の場合、頂点を符号化している配列の融解温度の間に差が存在すると、生成されやすい道

☆2 配列の融解温度とは、その相補配列との会合反応を考えたとき、50%の分子が二重螺旋を形成し、残りの 50%の分子が解離して平衡状態を保っているときの温度を指す。

と生成されにくい道が生じてしまうことになる。

各配列に対してその融解温度は、Nearest-Neighbor モデルを用いて計算されるが、比較的短い配列を設計する場合には GC 含量^{☆3}を融解温度の近似として用いることもある。

第3の制約は、実験プロトコルにも依存するが、(3) 特定の塩基配列が（指定された部位以外には）現れてはならない

という制約である。特に、制限酵素と呼ばれる特定の塩基配列が出現する部位を切断する酵素を利用して、計算を行うような場合には重要である。この制約は PCR を用いるときにも必要になる。なぜなら、プライマーとして用いる配列の3'末端の6塩基程度の配列が他の配列やその連結部分に現れると、プライマーがその部分に貼り付いて誤った配列が増幅される原因となるからである。

これら3種類の制約はいずれも重要であるが、(1)をどのように評価するかによって、以下の2つのアプローチに大きく分類される。1つは、文字列間の類似度を測るための尺度を導入して(1)を評価することにより、符号理論的な立場から配列設計問題に取り組もうとするアプローチである。もう1つは、配列が実際にどのような構造をとるか熱力学的に考察しながら(1)を評価して配列設計問題に取り組むアプローチである。前者のアプローチは、熱力学的な考察をしないので当然その表現モデルの精度は粗い。しかしながら、通常、Hamming 距離などを利用して配列集合を評価するため、ビット演算などを利用することにより計算機による高速な評価が可能である。一方、後者は、精度が高い反面、熱力学的エネルギー計算に時間がかかるため、評価にかなりの時間がかかる。

そこで、通常は、前者のアプローチで大きな配列空間を探索して性能の良い配列集合を絞った上で、後者のアプローチを援用してさらに高性能の配列集合に絞り込むことがよく行われる。配列集合の探索には、遺伝的アルゴリズム、局所探索、分枝限定法などの探索技術が応用されることが多い。また、最終的には、実際に実験を行うことにより、配列集合の性能を評価することが大切である。計算機による配列設計は、実験による配列評価の負荷を軽減する上で重要な役割を果たす。

●符号理論的アプローチ

本章では、符号理論的アプローチの最近の研究をいくつか紹介する。これらの研究では、Hamming 距離をベースとした配列間の尺度を導入して制約(1)を表現し、そ

の尺度のもとで符号を設計する問題として定式化される。

制約の定式化

配列設計に関する初期の研究で、メンフィス大学の Garzon らは、配列が誤って会合することを制限するために、H-measure と呼ばれる距離を用いることを提案している。しかしながら、配列同士が溶液中でずれて会合することは考慮されているが、他の配列との接続部分に配列が会合してしまうことはあまり厳密には考えられていない。ここでは、Garzon らより正確な評価の仕方を与える。

まず、いくつかの記法を導入する。 S を設計したい配列集合、つまり、アルファベット $\{A, C, G, T\}$ 上の文字列の集合とする。ただし、簡単のため S の要素の長さはすべて n とする。任意の配列 $x = x_1 \cdots x_n \in S$ は、 x_1 から x_n の向きが5'から3'の向きに対応するものとする。ここで、 x_i と相補的な塩基を x'_i で表すことにすると、 x と二重螺旋をつくる相補配列は、 $x' = x'_n \cdots x'_1$ となる。また、配列 x の i 番目の塩基から j 番目の塩基までの部分配列を $x[i, j]$ で表し、同じ長さの配列 x, y の Hamming 距離を $H(x, y)$ で表すことにする。以下で、 d ($0 \leq d \leq n$) は配列間の非類似度を表す設計パラメータであり、 d の値が大きいほど誤った構造をとりにくい。

- (a) 任意の異なる配列 $x, y \in S$ に対して、 $H(x, y) \geq d$ となる。
- (a') 任意の異なる配列 $x, y \in S$ に対して、 $H(x, y') \geq d$ となる。
- (b) 任意の配列 $x, y, z \in S$ および、 $1 < i \leq n$ に対して、 $H(x, (yz)[i, i+n-1]) \geq d$ となる。
- (b') 任意の配列 $x, y, z \in S$ および、 $1 < i \leq n$ に対して、 $H(x, (y'z)[i, i+n-1]) \geq d$ 、 $H(x, (yz')[i, i+n-1]) \geq d$ 、 $H(x, (y'z')[i, i+n-1]) \geq d$ となる。

(a) は配列間の非類似性を要求したものである。この制約が成り立たずに $H(x, y)$ の値が小さいと、 x' が x だけでなく y にもハイブリダイズしてしまうことになる。また、(a') が成り立たずに $H(x, y')$ の値が小さいと、 y が y' だけでなく x にもハイブリダイズしてしまうことになる。(b) は配列 yz の接続部分と x の非類似性を要求したものである。各配列は溶液中を運動しながら会合するので、他の配列とずれて水素結合する可能性があるからである。この制約により、 x' が yz の接続部分にハイブリダイズすることを避けることができる。(b') は、 S の要素だけでなく、 S の相補配列が接続した場合を想

^{☆3} 配列に含まれる G または C の塩基の割合のこと。GC 間の水素結合が3本であるのに対し、AT 間の水素結合が2本しかないため、GC 間の結合が安定で強いという物理的性質に基づいている。



図-3 テンプレート法

定している。

また、より安全な配列評価を試みる場合は、配列の接続部分同士の比較をすることも必要であるが説明は省略する。また、Hamming 距離をベースとした上記の制約では、ミスマッチのない比較的長い共通部分列が生じてしまう危険性がある。連続した塩基対はエネルギー的に安定するので、このような共通部分列の存在を避けなければならない。このため、しばしば、配列 x, y 間の距離として、 x と y に共通して現れる部分列の最大の長さを用いて設計に役立てることがある。

最近の研究成果と課題

従来の研究では、上記のように定式化された評価基準のもとで、遺伝的アルゴリズムやランダム生成法などにより、配列空間を探索する研究が主流であったが、最近では、符号理論の成果を利用しようとする研究が見受けられ、大量の本数の配列設計に役立ちつつある。

制約 (a) および (a') を満たした配列集合に関する理論的な研究として Marathe らの研究がある。彼らは制約 (a) および (a') を満たす最大の配列本数の上界と下界に関する結果を符号理論の結果を利用しながら求めている。しかしながら、その上界と下界には大きな差が存在し、研究の余地を残している。

制約 (a), (a'), (b), (b') を満たし、かつ GC 含量が一定であるような大量の配列集合を設計するための手法として、有田らはテンプレート法を提案している³⁾。テンプレート配列とは、長さ n の配列において A または T の塩基が出現する位置を 1 で表し、G または C の塩基が出現する位置を 0 で表した 2 進文字列である。一方、コード配列とは、配列において、G または A の塩基が出現する位置を 1 で表し、C または T の塩基が出現する位置を 0 で表した配列である。塩基配列のテンプレート配列とコード配列が与えられると、もとの配列を一意に復元できるから、任意の配列をそのテンプレート配列とコード配列によって表現することができる (図-3 参照)。

テンプレート法では、制約 (a) を満たすためにコード配列を用い、制約 (a'), (b), (b') を満たすために固定されたテンプレート配列を用いる。テンプレート配列

を固定することは GC 含量を一定にすることにもつながり、融解温度を近似的に揃えることができる点でもうれしい。ここで、テンプレート配列 $t \in \{0,1\}^*$ に対して以下のような評価方法を考える。

$$||t|| = \min \{ H(t, t^R), H(t, w[i, i+n-1]) \}$$

$$w \in \{tt, t^Rt, tt^R, t^Rt^R\}, 1 < i \leq n$$

ここで、 t^R は t の逆配列である。

配列 x のテンプレート配列が t のとき、 x' のテンプレート配列は t^R となることに注意すると、すべての要素が $||t|| \geq d$ となるテンプレート配列 t を持つ配列集合 S は制約 (a'), (b), (b') を満たすことが容易に分かる。よって、各長さ n について $||t||$ の値が最大のテンプレート配列は、制約 (a'), (b), (b') を満たすという点で最良の性質を有していることになる。

有田らは、このような最良の性質を持つテンプレート配列を探索した。その結果、最良のテンプレート配列 t の評価値 $||t||$ は大体 t の長さの $\frac{1}{3}$ 程度であることが分かっている。たとえば、 $n = 24$ の場合は、 $t = 001111001001010111111111$ というテンプレート配列が最適な配列の 1 つであり、 $||t|| = 8$ である。最適な値をとるテンプレート配列の個数は非常に多い場合があり、たとえば $n = 24$ の場合は $||t|| = 8$ のものが 196,894 本ある。これは、「配列設計における制約」で述べた制約 (3) などの他の制約を満たす上では、都合の良い特徴である。

制約 (a) を満たすためには、コード配列に最小 Hamming 距離が d であるような誤り訂正符号を用いればよい。たとえば、 $n = 24$ においてはゴレイ符号を利用して $d = 8$ の最小 Hamming 距離で 4096 本の配列を生成することができる。ミスマッチ数が $d = 8$ で十分かどうかを検証するためには今後の実験評価も必要になるが、このように大量の質の良い配列集合を提供できる点がテンプレート法の大きな魅力である。

しかしながら、テンプレート配列を固定しているため、テンプレート法は、設計できる配列本数の意味で、理論的に最良の設計方法を与えているわけではない。つまり、制約の (a), (a'), (b), (b') を満たす配列本数の最大値に関しては、理論的な研究の余地を残している。

● 熱力学的評価に基づくアプローチ

Hamming 距離をベースとした上記の制約の弱点は、バルジループなどの二次構造形成を避けることができない点にある。この章では、熱力学的な自由エネルギー計算に基づいて、このような二次構造を避けるための配列設計手法に関して解説する。ただし、ここで主に解説するのは、配列それ自身で二次構造を形成する場合 (配列設計の制約 (1b) の場合) を想定した研究である。

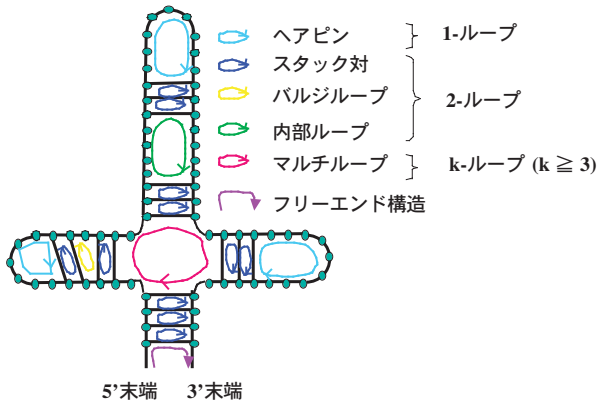


図-4 DNA分子の二次構造

配列の二次構造と自由エネルギー

配列 α に対し、その i 番目の塩基と j 番目の塩基が水素結合して形成されている塩基対を (i, j) で表すことにする (ただし、 $i < j$ とする)。塩基対 $(i, j), (p, q)$ に対し、 $i < p < q < j$ が成り立つとき $(p, q) < (i, j)$ と書く。配列 α の二次構造は、そのような塩基対の有限集合として定義される。配列 α とその二次構造 T に対して、 $\alpha(T)$ を構造付き配列と呼び、 α が二次構造 T を形成していることを表すことにする。

配列の二次構造は、ヘアピン、スタック対、バルジループ、内部ループ、マルチループ、フリーエンド構造という特徴的な基本部分構造に分類される (図-4 参照)。フリーエンド構造以外は、グラフとして見たとき閉路を形成している。また、塩基対を k 個持つ閉路を k -ループとも呼ぶ。ヘアピンは、1-ループ、スタック対、バルジループ、内部ループは、2-ループ、マルチループは、ある $k \geq 3$ に対して k -ループとなる。

Nearest-Neighbor モデルでは、これらの基本部分構造の自由エネルギーが、それらを構成する塩基の種類と個数に依存した関数として与えられる。たとえば、ヘアピンの場合、ヘアピンに含まれる唯一の塩基対の種類、その塩基対に隣接する2つの塩基の種類、塩基対を構成しない塩基の個数、に依存した関数として与えられる。詳細は、Andrionescu らの文献²⁾を参照されたい。構造付き配列 $\alpha(T)$ に対して、その自由エネルギー $E(\alpha(T))$ は、 $\alpha(T)$ を構成する基本部分構造の自由エネルギーの総和として与えられる。

配列集合の自由エネルギーと配列設計

配列集合を設計するためには、与えられた配列集合の各要素を接続してできる配列が、二次構造を形成するかどうかを検証する効率の良いアルゴリズムを与える必要がある。ただし、接続の仕方にも問題によって制限があ

る。たとえば、Adleman の実験の場合、接続されるのは隣り合う頂点だけであり、隣接しない頂点が接続された配列に関してはチェックする必要はない。この問題は以下のように定式化できる。

Σ をアルファベット $\{A, C, G, T\}$ とする。また、 Σ と異なるアルファベット Γ を考える。ここで、 Γ の各要素は DNA 配列へ符号化される対象を表す。たとえば、Adleman の実験の場合、 Γ は入力グラフの頂点集合となる。 S を長さ n の配列集合とする。関数 $\phi: \Gamma \rightarrow S$ は、 ϕ が全単射のとき符号化関数と呼ばれる。また、 ϕ の定義域を Γ から Γ^* へ自然に拡張するものとする。

R を Γ 上の正則言語とする。 $\alpha \in \phi(R)$ であるような任意の構造付き配列 $\alpha(T)$ に対する $E(\alpha(T))$ の最小値を、配列集合 S の (R, ϕ) に関する最小自由エネルギーという。特に、構造を形成しない配列を設計する場合、 (R, ϕ) に関する最小自由エネルギーが 0 以上であるような配列集合 S を探索することになる。ここで、与えられた S, R, ϕ に対して、 S の (R, ϕ) に関する最小自由エネルギーを効率良く求めるアルゴリズムを開発できれば、配列設計に役立てることができる。この問題は、 R が単一要素集合のとき、通常の二次構造予測問題となる。つまり、与えられた配列の最小自由エネルギーを求める問題と一致する。したがって、二次構造予測アルゴリズムのアイデアを応用できる可能性がある。

二次構造予測では、配列の最小自由エネルギーを求めるために動的計画法を用いる。ここで、配列の塩基対 (i, j) と (p, q) ($(p, q) < (i, j)$) を持つ 2-ループの自由エネルギーを $eL(i, j, p, q)$ で表し、塩基対 (i, j) で閉じられるヘアピンの自由エネルギーを $eH(i, j)$ で表すことにする。塩基対 (i, j) で閉じた塩基 i から j までの部分構造の最小自由エネルギー値を $V(i, j)$ とするとその漸化式は以下のように与えられる。ただし、ここでは簡単のため、線形な二次構造しか考えていない^{☆4}。

• $j - i \leq 1$ のとき、 $V(i, j) = \infty$ 。

• $j - i > 1$ のとき、

$$V(i, j) = \min \{ eH(i, j), eL(i, j, p, q) + V(p, q) \mid (p, q) < (i, j) \}$$

また、 $eF(i, j)$ で塩基対 (i, j) を持つフリーエンド構造の自由エネルギーを表すと、最小自由エネルギー E は、

$$E = \min \{ eF(i, j) + V(i, j) \mid 1 \leq i < j \leq l \}$$

となる。ここで、 l は配列 α の長さである。この計算にかかる時間は、 $O(l^4)$ であるが、Lyngso らは、 $O(l^3)$ に改良する方法を与えている⁷⁾。

Andrionescu らは、さらにこの動的計画法を改良して、配列集合の最小自由エネルギーを計算する手法を提案して

☆4 二次構造 T に含まれる塩基対が関係 $<$ に関して線形に順序付けられるとき、 T は線形であるという。つまり、線形な二次構造は、マルチループを持たない。

いる²⁾。彼らが取り扱ったのは、 R が $\Gamma = \{a_1, b_1, \dots, a_k, b_k\}$ 上の有限の正則言語 $R = \{a_1, b_1\} \cdot \{a_2, b_2\} \cdots \{a_k, b_k\}$ となる場合である。配列集合 S は 2^k 本の配列を含むことになる。彼らの手法の概略を説明すると、上記の $V(i, j)$ の定義において、さらにパラメータ r と s を導入して、塩基 i と j のそれぞれが $\{\phi(a_1), \dots, \phi(a_k)\}$ の配列に属しているか (この場合 $r = A, s = A$ とする)、 $\{\phi(b_1), \dots, \phi(b_k)\}$ の配列に属しているか (この場合 $r = B, s = B$ とする)、を規定するというアプローチである。 $V(i, r, j, s)$ に関して漸化式を構成しなおすことにより、彼らは、 $O(l^3)$ のアルゴリズムを与えている (彼らの結果は、本稿で示した漸化式ではなく、Lyngso らによる改良アルゴリズムに基づいている)。

また、彼らは、 $R = \Gamma^+$ の場合も理論的に考察している。そして、配列集合 S に対して、以下の条件を満たす定数 m が存在することを示している。

S^r が構造をとる $\Rightarrow S^m$ が構造をとる

ただし、 m は $\exp(\text{poly}(|S|), n)$ で抑えられるに過ぎない。したがって、多項式時間で判定できる手法を与えることには成功していない。このように、 R が無限集合になる場合に効率的な自由エネルギー計算方法を与えることは、未解決の研究課題である⁴⁾。

配列は一般に複数の二次構造をとり得るので、とり得るすべての二次構造の分布を統計熱力学的に考慮した配列設計手法が東京大学の Rose や Arkansas 大学の Deaton らによって進められている。また、複数の配列が会合して構造を形成する場合 (配列設計の制約 (1a) の場合) については、非常に多種多様で複雑な構造体を形成する可能性があるため、反応系のシミュレータを利用する等の実際的なアプローチがとられる。理論計算科学的観点からは、この問題をどのように定式化するかといった根本問題も含めて、アルゴリズム論、計算量理論の観点からの研究はまったく手がつけられていないのが実情である。

●二次構造予測の逆問題

与えられた配列の二次構造の中で最小の自由エネルギーを持つものを求めるのが、二次構造予測問題であり、前章でも述べたようによく研究されてきた。しかし、最近、この逆問題を解くことが必要になってきている。特定の構造をとる DNA 配列または RNA 配列を利用して計算を行わせたり、さらにこれらの基本構造を利用して意図的な微細構造を形成することに利用できるからである。つまり、この逆問題は、DNA 計算だけでなく DNA ナノテクノロジーとも関連した重要な研究課題となっている。

逆問題は、何番目の塩基と何番目の塩基が水素結合しているかを表す塩基対の集合 T が入力として与えられ、 T を最小自由エネルギーの二次構造として持つ塩基配列

α を出力する問題として定義される。

Wien 大学の Hofacker らは、二次構造間の距離を導入して、配列 α の最小自由エネルギーの二次構造と目的の二次構造 T の距離をできるだけ小さくするように、配列空間を確率的に局所探索するアルゴリズムを提案している。そして、このアルゴリズムは、実際に実装され、Vienna RNA Package というソフトウェアパッケージの一部として公開されている。一方、British Columbia 大学の Condon らは、この逆問題の理論的な解析を行っている。しかしながら、これは最初の一步とでもいうべき成果にすぎず、この問題の計算量的な難しさもよく分かっていないのが実情である。

●まとめと補足

本稿では、DNA コンピューティングの実験を成功させるための重要課題の 1 つとして、実験に用いる DNA 配列を適切に設計する問題を取り扱った研究を紹介した。今年の 7 月、理論計算機科学の国際会議 ICALP において、Condon は RNA 二次構造に関連する問題についての招待講演を行っている⁴⁾。ここでは、配列設計の問題にも多く触れられている。内容も文献情報もよくまとまった解説であるので一読をお勧めする。多くの未解決な問題が転がっていることが分かると思う。

配列設計に関連する話題として、本稿で触れられなかった重要な課題としては、形態変化をする配列の設計問題がある。形態変化をする配列の設計問題とは、温度の変化や他の配列との会合により、二次構造が指定された通りに形態変化する配列を設計する問題である。この問題は、動的な変化を含むため形態変化を行う反応経路に関する議論を行う必要があり、難易度の高い問題である。東京大学の萩谷らは、DNA 計算に関連して、最近この問題を取り扱っている。

参考文献

- 1) Adleman, L.:Molecular Computation of Solutions to Combinatorial Problems, Science 266, pp.1021-1024 (1994).
- 2) Andronescu, M., Dees, D., Slaybaugh, L., Zhao, Y., Condon, A., Cohen, B. and Skiena, S.:Algorithms for Testing That Sets of DNA Words Concatenate without Secondary Structure, In Proc. of 8th International Meeting on DNA Based Computers, Lecture Notes in Computer Science, Vol.2568, Springer, pp.182-195 (2002).
- 3) Arita, M. and Kobayashi, S.:DNA Sequence Design Using Templates, New Generation Computing, 20, pp.263-277 (2002).
- 4) Condon, A.:Problems on RNA Secondary Structure Prediction and Design, Proc. of ICALP' 2003, Lecture Notes in Computer Science, Vol.2719, pp.22-32 (2003).
- 5) 萩谷昌己, 横森 貴 (共編): DNA コンピュータ, 培風館 (2001).
- 6) Hofacker, I.L., Fontana, W., Stadler, P.F., Bonhoeffer, L.S., Tacker, M. and Schuster, P.:Fast Folding and Comparison of RNA Secondary Structures (The Vienna RNA Package), Monatshefte für Chemie, 125, pp.167-188 (1994).
- 7) Lyngso, R.B., Zuker, M. and Pedersen, C.N.S.:Internal Loops in RNA Secondary Structure Prediction, In Proc. of RECOMB' 1999, pp.260-267, (1999).

(平成 15 年 12 月 26 日受付)