

DNA-Computer - Arbeit der Rechner von morgen mit DNA anstatt mit Silizium ?

von Stefan Lorkowski und Paul Cullen

Siliziumchips sind seit über 20 Jahren Grundlage für die Entwicklung immer leistungsfähigerer Computer. Die Leistungsfähigkeit zu erhöhen, setzt voraus, daß die Einheiten eines Chips verkleinert und mehr Bausteine auf kleinerem Raum untergebracht werden. Aus physikalischen Gründen (Quantenunsicherheit, Wellenlänge elektromagnetischer Strahlung) kann die Miniaturisierung nicht unbegrenzt fortgesetzt werden. Die Möglichkeit, Rechenoperationen auf Molekülen durchzuführen, könnte dieses Problem lösen und die Computertechnologie revolutionieren.

Nukleinsäuremoleküle sind Informationsträger, die die Anforderungen, Rechenoperationen auf molekularer Ebene durchzuführen, erfüllen. Computer auf Nukleinsäurebasis arbeiten im Gegensatz zu herkömmlichen Rechnern parallel und haben vier Entscheidungsmöglichkeiten anstelle der zwei Alternativen eines binären Systems.

Adleman war einer der ersten Wissenschaftler, der sich mit Lösungen mathematischer Probleme mittels Nukleinsäuren auseinandersetzte (1). In der Zeitschrift *Science* publizierte er eine Lösung des »Problem eines Handlungsreisenden«. Seither ist die Vision eines DNA-Computers keine reine *Science Fiction* mehr.

Das mathematische Problem, einen Reiseweg zu vorgegebenen Orten zu finden, ohne einen Ort mehrmals aufzusuchen, stellt leistungsfähigste Computer auf harte Bewährungsproben. Allen Lösungsalgorithmen ist zu eigen, daß die Zahl der Lösungen, und damit die Rechenzeit, exponentiell mit der Zahl der Orte zunimmt. Daher ist es selbst für heutige Computer schwierig, Lösungen für solche Probleme zu finden. Für einen parallel arbeitenden Computer nimmt die Arbeitszeit nur linear mit der Zahl der Variablen zu.

Adleman verwendete zur Lösung des Puzzles DNA-Oligonukleotide O_i aus 20 Basen mit zufälliger Sequenz. Diese Oligonukleotide O_i repräsentierten einzelne Orte i der Reise. Anschließend wurden Oligonukleotide $O_i \rightarrow_j$ mit 20 Basen kon-

struiert, die den Weg zwischen zwei Reisepunkten entsprachen. Die ersten zehn Basen des 5'-Endes dieser Oligonukleotide $O_{i \rightarrow j}$ waren identisch mit den letzten zehn Basen des 3'-Endes der Oligonukleotide O_i und die zehn Basen ihres 3'-Endes stimmten mit den ersten zehn Basen des 5'-Endes der Oligonukleotide O_j überein (Abb. 1). Anschließend wurden die zu den Oligonukleotiden O_i komplementären Oligonukleotide \hat{O}_i mit den Oligonukleotiden $O_{i \rightarrow j}$ gemischt. Die Hybridisierungsprodukte wurden ligiert und die Ligationsprodukte repräsentierten mögliche Reiserouten.

In einem weiteren Schritt wurden die Ligationsprodukte in einer PCR amplifiziert, um Lösungen zu selektieren, die nicht den Ort 0 als Startpunkt und den Ort 6

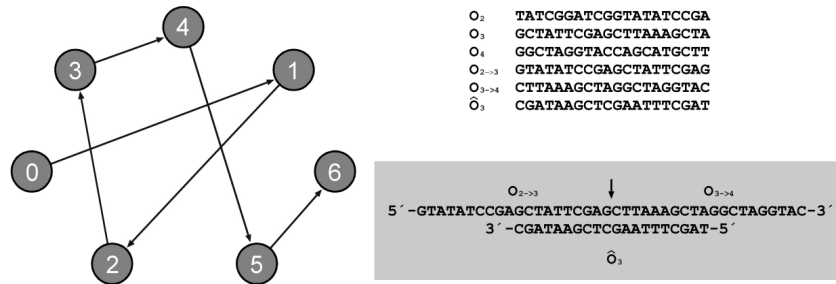


Abb. 1

Links: Mögliche Lösung des Puzzles „Problem eines Handlungsreisenden“ für eine Reiseroute mit sieben Orten ($i = 0$ Startpunkt und $i = 6$ Endpunkt): $0 \rightarrow 1$, $1 \rightarrow 2$, $2 \rightarrow 3$, $3 \rightarrow 4$, $4 \rightarrow 5$, $5 \rightarrow 6$. **Rechts:** Für jeden der Reiseorte i wird ein Oligonukleotid O_i verwendet (dargestellt sind O_2 , O_3 und O_4 für die Orte 2, 3 und 4). Für die Strecke zwischen zwei Orten werden Oligonukleotide $O_{i \rightarrow j}$ ausgewählt (dargestellt sind Oligonukleotide für Strecken zwischen den Orten 2 und 3 sowie den Orten 3 und 4). Oligonukleotide O_i einzelner Orte überlappen mit Oligonukleotiden $O_{i \rightarrow j}$ angrenzender Reiserouten, so dass während der Hybridisierung komplementäre Oligonukleotide \hat{O}_i mit Oligonukleotiden $O_{i \rightarrow j}$ angrenzender Strecken hybridisieren können.

als Endpunkt der Reise aufwiesen. Dazu wurde der Primer für den Ort 0 (Oligonukleotid O_0) und der zur Sequenz des Oligonukleotids des Ortes 6 komplementäre Primer \hat{O}_6 verwendet. Die PCR-Produkte wurden im Agarosegel separiert. Banden mit korrekter Größe (eine Reiseroute mit sieben Koordinaten entspricht einem PCR-Produkt von 140 Basen) wurden eluiert. Anschließend wurde das Eluat schrittweise mit einem Biotin/Avidin-Beadsystem aufgereinigt. Dazu wurden die Oligonukleotide \hat{O}_i an Beads gekoppelt. Das Eluat wurde sukzessive mit den sieben Fraktionen der gekoppelten Oligonukleotide \hat{O}_i aufgereinigt, so daß am Ende nur noch PCR-Produkte im Eluat verblieben, die alle Sequenzabschnitte O_i enthielten.

Abschließend wurde das Eluat in i PCR-Ansätzen amplifiziert, wobei in einer Reaktion der Primer O_0 und ein Primer \hat{O}_i verwendet wurden. Die PCR-Produkte wurden

a	b	c
d	e	f
g	h	i

Abb.2

Schachbrett zur Veranschaulichung der Lösung des Springer-Problems mit DNA/RNA-Computer.

im Gel separiert. Bei einer Reise zu sieben Orten müssen in der Amplifikation Produkte mit einer Größe von 40, 60, 80, 100, 120 und 140 Basen entstehen. Die Lösung des Problems kann durch eine Sequenzierung der größten Bande bestimmt werden.

Diese Publikation hat zahlreiche Wissenschaftler zu neuen Ansätzen angeregt. *Baum* entwarf 1995 Ideen zur Konstruktion von Speichermedien und Datenbanken auf DNA-Basis (2). *Lipton* entwickelte zusammen mit *Boneh* und *Dunworth* eine Methode, das von der *National Security Agency* entwickelte Kodierungsverfahren „*data encryption standard system*“ zu dekodieren. Die Kodierung, die aufgrund 2^{56} möglicher Lösungen von binären Computern nicht zu lösen ist, kann mit parallelen DNA-Computern gelöst werden. *Guarnieri et al.* stellten 1996 einen Algorithmus vor, mit dem sie mit DNA-Molekülen zwei rationale, nicht negative binäre Zahlen addieren konnten (3).

Die Entwicklung von DNA-Computern übt auch weiterhin Faszination aus. Veröffentlichungen in *Nature* und *PNAS* beweisen dies. Eine Arbeitsgruppe um *Landweber* und *Lipton* versuchte, ein fundamentales Schachproblem zu lösen (4). Dieses Springer-Problem beinhaltet die Frage, in wie vielen Positionen zwei Springer auf einem Schachbrett platziert werden können, ohne sich gegenseitig angreifen zu können. Auch bei diesem Problem nimmt die Zahl der Lösungen exponentiell mit der Zahl der Variablen (Zahl der Felder) zu.

Da das Springer-Problem mit einem mathematischen Ansatz nur schwierig zu lösen ist, konstruierte *Landweber* mit ihrem Team ein System aus 1024 Nukleinsäuresträngen mit verschiedenen Kombinationen von RNA-Basen. Jeder RNA-Strang repräsentierte eine mögliche Anordnung der Springer auf dem Schachbrett. Um das Rechenexempel zu vereinfachen, wurde das Spielfeld auf neun Felder reduziert. Dadurch verringerte sich die Zahl der möglichen Kombinationen der Springer von einigen Millionen bei einem konventionellen Spielfeld auf 512 Anordnungen.

Die Gruppe stellte eine Bibliothek her, die RNA-Moleküle enthielt, die alle möglichen Anordnungen der Springer repräsentierten. Ein Teil dieser Bibliothek, wurde mit DNA-Molekülen hybridisiert, die der Anwesenheit des Springers auf dem Feld *a* des 3 x 3-Schachfeldes entsprachen (Abb. 2). Gleichzeitig wurden die durch die Anwesenheit eines Springers auf dem Feld *a* notwendigen Abwesenheiten der Springer auf den Feldern *f* und *h* durch Zugabe von entsprechenden DNA-Molekülen bedingt. Nach einer Behandlung mit Ribonuklease H zum Verdau der ent-

standenen RNA/DNA-Hybride waren die Anordnungen *a/f* und *a/h* der Springer eliminiert.

In einem zweiten Ansatz wurden DNA-Moleküle, die der Abwesenheit eines Springers auf dem Feld *a* entsprachen, mit einem Teil der RNA-Bibliothek hybridisiert. Nach der RNase H-Behandlung verblieben alle möglichen Positionen

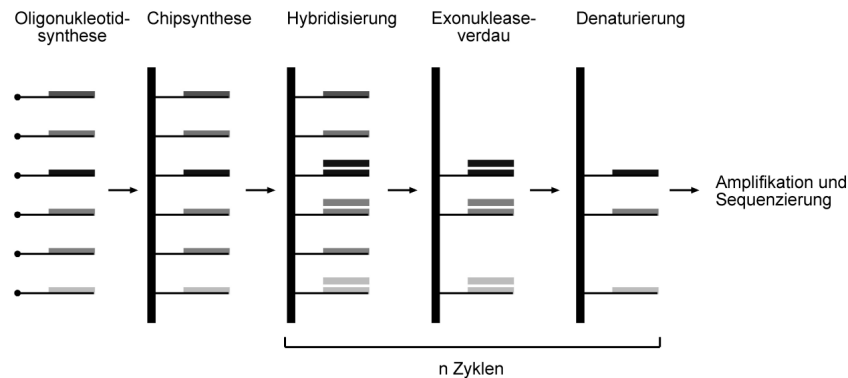


Abb. 3

Rechenoperationen mit einem an einem Substrat immobilisierten DNA-Computer.

des ersten Springers auf den acht restlichen Positionen. Die beiden Reaktionsansätze wurden vermischt, um alle verbliebenen Positionen der Springer zu vereinen. Um die verbliebenen Anordnungen zu eliminieren, mussten diese Reaktionen nacheinander für die Felder *b*, *c*, *d* und *f* mit dem kombinierten Ansatz wiederholt werden. Nach einer Amplifikation wurden die PCR-Produkte in Gelen getrennt. Daraus resultierten Bandenmuster, die Lösungen des Problems kodierten und direkt ausgelesen werden konnten.

Ein Forschungsteam um *Smith* konnte einen DNA-Computer herstellen, der mit Nucleinsäuren arbeitet, die auf einem festen Substrat immobilisiert waren (5). Dies könnte der erste Schritt zu einem DNA-Computer sein, der mit elektronischen Komponenten verbunden werden kann.

Smith und seine Mitarbeiter konstruierten einen DNA-Computer, der sich mit dem „*satisfiability problem*“ auseinandersetzte. Dieses stellt prinzipiell das gleiche mathematische Puzzle dar, wie das Springer-Problem, nur in einer abstrakteren Form. Analog zu der RNA-Bibliothek, die von *Landweber* und ihren Kollegen verwendet wurde, konstruierten *Smith et al.* eine Bibliothek aus DNA-Oligonucleotiden, die die falschen und richtigen Antworten ihres Problems darstellten. Die Oligonucleotide wurden analog zu einem DNA-Mikroarray zur Sequenz- oder Expressionsanalyse auf einer Goldoberfläche aufgebracht. Zur Eliminierung der falschen Antworten wurden Oligonucleotide synthetisiert, die richtige Antworten repräsentierten und komplementär zu den entsprechenden DNA-Molekülen in der DNA-Bibliothek waren.

Zunächst wurde der Array mit DNA-Molekülen hybridisiert, die einen Teil der richtigen Lösungen in Form der komplementären Oligonucleotide enthielt. Die Teillösungen, die sich aus diesem Kriterium ergaben, wurden als DNA/DNA-Hybride detektiert. Mittels einzelstrangspezifischer Exonucleasen wurden die verbliebenen einzelsträngigen Nucleinsäuren (die falschen Lösungen) auf dem Chip gespalten. Durch Erhitzen wurden die restlichen Doppelstränge denaturiert und der Array wurde erneut mit DNA-Oligonucleotiden hybridisiert, die Lösungen anhand eines zweiten Kriteriums repräsentierten. Auch hier wurden die verbliebenen Einzelstränge gespalten. Der Array wurde nach der erneuten Denaturierung für weitere Rechenzyklen verwendet, bis der Chip mit allen DNA-Molekülen, die aufgrund weiterer Kriterien Lösungen des Problems darstellten, hybridisiert worden ist. Nach der letzten Denaturierung befanden sich nur DNA-Moleküle auf dem Chip, die allen Kriterien entsprochen haben, also in jedem Hybridisierungszyklus (Rechenzyklus) einen komplementären DNA-Strang gefunden haben. Die verbliebenen Nucleinsäuren (die Lösungen) konnten amplifiziert und anschließend durch Sequenzierung identifiziert werden.

Auch wenn die Leistungsfähigkeit von DNA-Computern noch weit von der Leistung heutiger Rechner mit Siliziumtechnologie entfernt ist, stellen die bislang publizierten „Rechenmaschinen“ vielversprechende Ansätze dar.

Der große Vorteil von Nukleinsäuren als Speichermedium ist ihre hohe Informationsdichte, die dem eines Siliziumchips und gebräuchlichen Speichermedien weit überlegen ist. Ein Gramm DNA enthält so viele Informationen wie 10^{12} CD-ROMs. Die Zukunft wird zeigen müssen, ob verbesserte Verfahren entwickelt werden können, die Computer auf DNA-Basis – und damit Rechenoperationen auf molekularer Ebene – effektiv möglich machen werden.

Literatur

- [1] Adleman, L. M. Molecular Computation of Solutions to Combinatorial Problems. Science 1994, 266:1021-1024.
- [2] Baum, E. B. Building an Associative Memory Vastly Larger Than the Brain. Science 1995, 268:583-585.
- [3] Guarnieri, F., Fliss, M., Bancroft, C. Making DNA Add. Science 1996, 273:220-223.
- [4] Faulhammer, D., Cukras, A. R., Lipton, R. J., und Landweber, L. F. Molecular Computation: RNA Solutions to Chess Problems. Proceedings of the National Academy of Sciences 2000, 97(4):1385-1389.
- [5] Liu, Q., Wang, L., Frutos, A. G., Condon, A. E., Corn, R. M., und Smith, L. M. DNA Computing On Surfaces. Nature 2000, 403:175-179.

Kontaktadresse:

Stefan Lorkowski,

Institut für Arterioskleroseforschung an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Domagkstrasse 3, 48149 Münster,

Telefon: 02 51 / 83 - 5 25 13, Fax: 02 51 / 83 - 5 69 02

E-Mail: lorkost@uni-muenster.de

Paul Cullen,

Ogham Diagnostics GmbH, Mendelstrasse 11, 48149 Münster