

Programmieren mit Molekülen

Von Robert Penchovsky,
Manfred Relle, Thomas Rücker und
John S. McCaskill

Das Makromolekül DNA, Träger des Erbgutes, kann man auf zwei Arten betrachten: Als chemisch komplexe Struktur und als Informationsspeicher. Jede Struktur kann Information enthalten. Im Gegensatz zu anderen Strukturen – die ebenfalls Informationen beinhalten können – besitzt die lineare Basensequenz eines DNA-Moleküls jedoch übertragbare Information, die von anderen Makromolekülen gelesen und kopiert werden kann. Eine einzelsträngige DNA-Sequenz hat besondere Bindungsstellen, an denen sie durch komplementäre Basen zu einer doppelsträngigen ergänzt wird. Am Auftreten oder Nichtauftreten von Hybridisierung kann man entscheiden, ob zwei DNA-Abschnitte zueinander passen. Die Verallgemeinerung dieses Prinzips auf andere Strukturen nennt man Template-Chemie (auf ihr beruht der biologische Kopiervorgang von DNA-Molekülen). Manche Aufgaben erfordern es, aus einer Menge von DNA-Sequenzen diejenigen zu extrahieren, die irgendeine spezifische Teilsequenz enthalten. Hierfür läßt man die DNA-Einzelstränge an einem festen Träger vorbeifließen, an dem Kopien der (reversen) komplementären DNA-Teilsequenz haften. (siehe Bild 1 zur DNA-Hybridisierung an einem Bead). Durch Hybridisierung werden die gesuchten Sequenzen gebunden. Die ungebundenen DNA-Stränge werden weggeschwämmt. Die gesuchten DNA-Stränge löst man durch Änderung der Temperatur oder der chemischen Umgebung vom Träger. In seiner klassischen Arbeit beschreibt Adleman das DNA-Computing als eine Kette derartiger Prozessschritte. Über die wiederholte Selektion

spezieller DNA-Sequenzen lösen sie ein kombinatorisches Problem.

In Mikroreaktoren lässt sich eine komplizierte Kanaltopologie verwirklichen. Diese Topologie erlaubt, DNA gemäß einer Datenflussarchitektur zu bearbeiten. Dazu muss man eine Art der Programmierung finden, die DNA-Moleküle mit bestimmten Teilsequenzen auswählt und zwischen zwei Kanälen hin und her transportiert. Magnetische Beads dienen als Träger für den Transfer spezifischer DNA (zwischen zwei verschiedenen chemischen Lösungen). Um sie nach dem Transport weiter zu bearbeiten, muss man die DNA-Sequenzen von den Beads ablösen. Hierzu setzen wir ein neuartiges chemisches Verfahren ein. Die gezielte Auswahl bestimmter DNA-Sequenzen und deren Transport bilden die Grundlagen des auf Hybridisierung beruhenden DNA-Computings. Bei geeigneter Anordnung solcher Auswahl-Transfer-Module können mit einem Magneten verschiedene Bearbeitungsstadien synchron getaktet werden (siehe Bild 2). Weiterhin ist auch eine parallele Verarbeitung möglich.

Mikroflussreaktoren (die viele solcher Auswahl-Transfer-Module enthalten) stellt man aus Silizium her. Sie sind daher mit einem elektronischen Chip vergleichbar (siehe Bild S. 9): Die an den Beads angeheftete DNA ähnelt den Logikelementen und die Kanaltopologie entspricht den Kontakten zwischen den Schaltelementen. Wir haben bereits integrierte Mikroventile hergestellt, die eine dynamische Programmierung der Kanaltopologie erlauben. Damit komplexe Probleme lösbar sind, benötigt man Anordnungen von Hunderten oder Tausenden derartiger Ventile. Hier ist noch weitere Entwicklungsarbeit notwendig. Diese und alternative Techniken machen künftig Mikroreaktoren mit dynamisch rekonfigurierbaren Kanaltopologien mög-

Ein Mask-Aligner überträgt vom Computer gezeichnete Strukturen auf die Wafer.

Eine Ätzbank für das Tiefenätzen von Silizium und Glasscheiben (Wafer).





Thomas Rücker,
John S. McCaskill,
Manfred Relle und Robert
Penchovsky (v. l.)

lich sein, die einem Field Programmable Gate Array (FPGA) ähneln. Ein hoher Grad an Programmierbarkeit lässt sich auch erreichen, wenn es gelingt, verschiedene DNA-Sequenzen sehr gezielt an unterschiedlichen Orten an Beads anzuheften. Daher konzentrierten wir uns darauf, eine Technik zum parallelen Programmieren zu entwickeln, die das Anheften von DNA-Sequenzen an jedem beliebigen Ort in einem Mikroflussreaktor erlaubt. Unsere Lösung umfasst beide Ansätze:

1. eine photosensitive Technik zum Anheften von DNA in Verbindung mit Photolithographie und
2. eine Kanalarchitektur, die es ermöglicht, relevante DNA-Sequenzen an ihre jeweiligen Positionen zu transportieren.

Das schwierige unter dem Namen Maximum Clique bekannte NP-vollständige graphentheoretische Problem wird als Testbeispiel verwendet, da es relativ

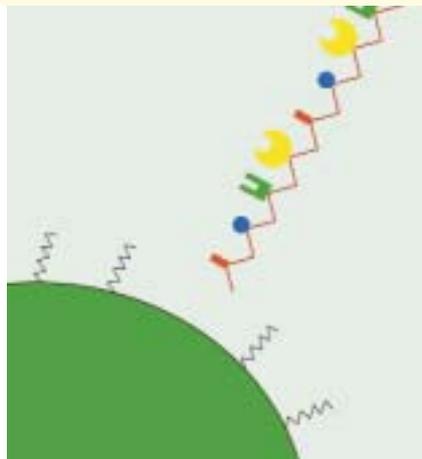
wenig Eingabeinformation erfordert (eine Liste aller Kanten des Graphen). Mögliche Lösungen können als einfache Bit-strings, die Untermenüen der Kantenliste entsprechen, dargestellt werden. Wie sich zeigte, genügte ein einziges Reaktordesign, um alle möglichen Graphen bis zu einer maximalen Größe zu beschreiben. Eine Photomaske bestimmt ein Muster von Orten, an denen im Mikroreaktor DNA an Beads angeheftet wird. Damit programmieren wir den DNA-Computer zur Lösung eines bestimmten graphentheoretischen Problems.

Diese Methode der Programmierung unterscheidet sich wesentlich vom Ansatz Adlemans. Anstelle einer Serie manueller Pipettierungsschritte hält sie den Fluss im Mikroreaktor konstant. Das Programm ist – außer in der DNA-Sequenz – durch ein Lichtmuster bestimmt. Dies ist den frühen konfigurierbaren Logikbausteinen ähnlich. Geplant ist eine weitere Entwicklung, die auf dynamischer photochemischer Rekonfiguration beruht. Beim gegenwärtigen Stand ist unsere Methode – genauso wie Adlemans Exhaustive Search Algorithm – nur beschränkt einsetzbar. Sie liefert nur dann eine Lösung in polynomieller Zeit (quadratisch, in Abhängigkeit der Graphengröße), wenn die DNA-Population größer ist als der exponentiell wachsende Raum der Lösungen.

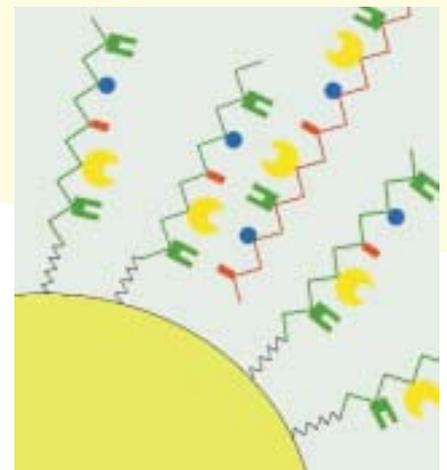
Bild 1: Photogesteuerte Hybridisierung von DNA-Sequenzen auf magnetische Beads

- A. (links) Beads werden in Dunkelzonen nicht mit DNA-Sequenzen bedeckt.
- B. (rechts) Beads werden in Hellzonen mit spezifischen DNA-Sequenzen bedeckt (photochemisch gebunden). Danach können nur diese Beads DNA mit komplementären (Sub)-Sequenzen aus der Lösung fischen.

A.



B.



Typische DNA-Populationen können bis zu 10^{17} Moleküle umfassen, was die Lösung von Maximum-Clique-Problemen erlaubt. Mit einem modernen Computer wären sie nicht zu bewältigen.

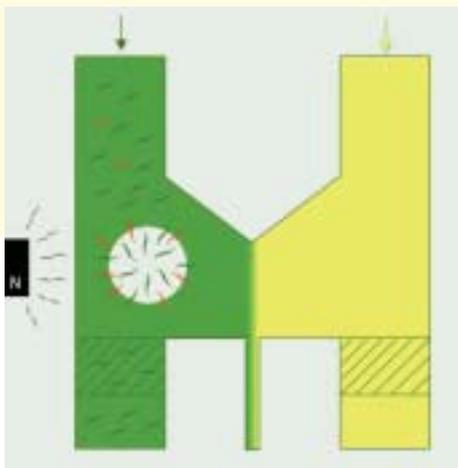
Die Konstruktion neuer DNA-Moleküle während der Informationsverarbeitung ist notwendig, um diese Begrenzung zu überwinden. Die Konstruktion wird mit Hilfe der bead-basierten isothermalen in vitro Amplifikation möglich. Zur Zeit experimentieren wir in diese Richtung. Indem man die katalytischen Eigenschaften von Enzymen nutzt, die auf DNA und Ribonukleinsäure (RNA) beruhen, lässt sich eine noch effektivere MIMD-Verarbeitung erreichen. Da der Mikroreaktor als Durchflusssystem angelegt ist, lässt sich durch ein echtes Feedback eine iterative Datenverarbeitung erreichen. Wenn während dieses Prozesses DNA-Stücke zusätzlich noch (mit kleinen Fehlern) kopiert werden, kann der iterative zu einem evolutiven Algorithmus werden. Die Ansprüche der evolutiven Algorithmen sind gut mit den spezifischen Fähigkeiten des DNA-Computings zu vereinbaren. ■

Robert Penchovsky, Manfred Relle und Thomas Rücker sind wissenschaftliche Mitarbeiter der GMD-Forschungsgruppe Biomolekulare Informationsverarbeitung (BioMIP)
John S. McCaskill leitet die Forschungsgruppe BioMIP.

Verweis

<http://www.gmd.de/BIOMIP/>

vorher



nachher

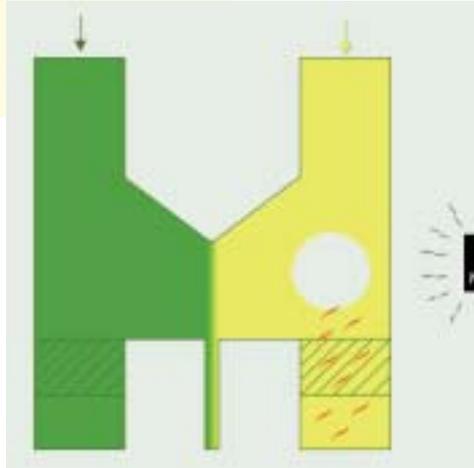


Bild 2: Selection-Transfer Modul für DNA. Links und rechts werden zwei verschiedene Lösungen von oben nach unten ständig durch die schematisch dargestellten Mikroreaktorkammern gepumpt. Die Lösung links enthält ein Gemisch unterschiedlicher DNA-Sequenzen in einer Pufferlösung, die eine Hybridisierung passender Stränge an die DNA-beschichteten Beads erlaubt. Zieht ein Magnet die Beads von links nach rechts, lassen sie die gebunden Hybrid-DNA in der zweiten, denaturierenden Lösung los. Dadurch wird das DNA-Gemisch nach Sequenztypen in zwei Kanäle sortiert.

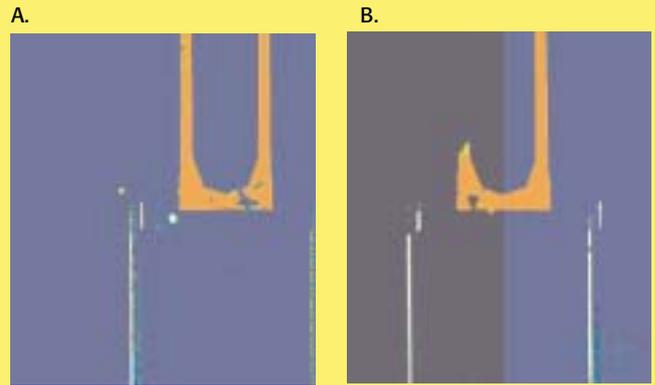


Bild 3: Photogesteuerte Hybridisierung von DNA-Sequenzen auf magnetischen Beads
A. Beads werden in einem photoempfindlichen Prozess mit spezifischen DNA-Sequenzen bedeckt (photochemisch gebunden). Markierte DNA auf dieses Beads leuchtet unter Laserlicht orange auf. Die Beads sind bei dieser Vergrößerung kaum individuell sichtbar. Sie können andere DNA-Moleküle mit komplementären (Sub-)Sequenzen aus DNA-Lösungen fischen.
B. Nur die rechte Seite des Reaktors wurde während der DNA-Immobilisierung beleuchtet. Beads in der dunklen Hälfte haben keine DNA gebunden und lassen komplementäre DNA-Sequenzen passieren. [Nach der Behandlung erkennt man, dass einige photomarkierte Beads von der rechten Seite zur linken Seite des Reaktors gewandert sind.] In der Anwendung dieses Prinzips für DNA-Computing sollen unterschiedliche Gruppen von Trennmodulen unterschiedliche DNA-Sequenzen erhalten.