

基于 DNA 链置换构建逻辑计算模型

吴 涛¹, 郭冰洁², 董亚非^{1,2}

(1. 陕西师范大学 计算机科学学院, 陕西 西安 710119;

2. 陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710119)

摘 要:近年来,随着电子元器件的微型化趋势,其传统制作工艺所面临的挑战也日益显著,寻找新型手段辅助甚至替代传统硅基计算机已逐渐成为科学家们的研究重点。所以,随着生物化学技术的不断发展,以 DNA 分子作为存储数据和运算媒介的新型计算模型引起了研究者的广泛关注。为此,提出了基于 DNA 链置换与荧光标记的分子逻辑计算模型。该方法利用重金属离子 Hg^{2+} 能够引发组成 DNA 分子中胸腺嘧啶 (thymine, T) 形成 $T-Hg^{2+}-T$ 错配的形式,通过检测荧光信号强度的相对变化,构建了与非逻辑门 (NAND)。之后,在前者的基础上利用 DNA 富含鸟嘌呤 (guanine, G) 的片段可以形成 G-四链体结构的情况下,通过结合氯化血红素 (Hemin) 形成具有过氧化物酶的活性进而促进过氧化氢 (H_2O_2) 氧化四甲基联苯胺 (TMB) 得到蓝色的 TMB^+ , 以此构建半加器。

关键词: DNA; 与非门; 半加器; 链置换; 荧光标记

中图分类号: TP31

文献标识码: A

文章编号: 1673-629X(2019)01-0044-05

doi: 10.3969/j.issn.1673-629X.2019.01.010

Construction of Logical Calculation Model Based on DNA Strand Displacement Reaction

WU Tao¹, GUO Bing-jie², DONG Ya-fei^{1,2}

(1. School of Computer Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China;

2. School of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: In recent years, with the tendency of miniaturization of electronic components, the challenges faced by traditional manufacturing process have become more and more obvious. It is becoming more and more important for scientists to find new ways to supplement or even replace traditional silicon-based computers. Therefore, with the continuous development of biochemical technology, DNA molecules as a new computational model for storing data and computing media have drawn much attention from researchers. For this reason, we propose a molecular logic calculation model based on DNA strand displacement and fluorescent labeling. The method uses heavy metal ions Hg^{2+} to induce the formation of $T-Hg^{2+}-T$ mismatch in thymine (T) of DNA molecules. By detecting the relative change of fluorescence signal intensity, a NAND gate is constructed. Then, using the guanine (G)-containing fragment of DNA on the basis of the former to form a G-quadruplex structure, a peroxidase-forming activity is formed by binding hemin. Half-adder is constructed by promoting hydrogen peroxide (H_2O_2) tetramethyl benzidine (TMB) to give blue TMB^+ .

Key words: DNA; NAND gate; half-adder; strand displacement reaction; fluorescent marker

0 引言

电子计算机作为 20 世纪最重要的科技发明之一,经过几十年的迅猛发展,逐渐成为人类社会不可或缺的一部分。然而,随着人们对于计算机的速度以及信息存储能力的要求越来越高,电子元器件的发展逐渐接近其物理极限。研究者们亟待找到新型材料来替代传统的硅基材料。

经过进一步研究, DNA 的高度并行性、易操作、高存储的特性进入了大家的视野。因为 DNA 具有精确的分子识别能力和极强的信息存储能力,所以以核酸分子生物学特性为基础来构建分子级别的布尔逻辑门^[1]并实现相关逻辑运算,成为近年来分子计算机科学和分子生物学交叉产生的新兴科研领域,并在生物医学以及计算机科学领域起到了一定的指导意义,引

收稿日期: 2018-02-09

修回日期: 2018-06-14

网络出版时间: 2018-11-15

基金项目: 国家自然科学基金 (61572302, 61272246)

作者简介: 吴 涛 (1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向为生物信息计算; 董亚非, 博导, 教授, 通讯作者, 研究方向为生物计算与 DNA 计算。

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1450.TP.20181114.1554.012.html>

起了研究者的广泛关注^[2]。

与传统的计算机材料相比,生物分子整体具有很强大的并行反应计算性;生物分子之间的相互杂交使得它运算时能够保持很高的稳定性;更为重要的是,作为组成 DNA 分子的含氮碱基:腺嘌呤(adenine, A),胸腺嘧啶(thymine, T),胞嘧啶(cytosine, C)和鸟嘌呤(guanine, G)之间具有严格的配对形式—A-T, G-C。因此核酸材料凭借这些优势使得研究新型逻辑结构、电路甚至计算机体系成为可能。

1961 年, Richard Feynman^[3]从理论上描述了在分子水平上构造亚微观计算机的可能性。1994 年, 美国科学家 Adleman^[4]通过 DNA 序列的方法来解决著名的 NP 完全问题——Hamilton Graph, 由此开创了 DNA 计算^[5]的先河。

以 DNA 和相关生物酶为基本材料的 DNA 计算是利用某些生化反应模拟某些问题的求解运算过程的新型分子生物计算方法。其核心就是将编码的 DNA 链作为输入信息, 在特殊的生物平台上经过一定时间的可控生化反应后, 通过分析反应产物进而得出问题的最优解^[6]。因此 DNA 计算有望解决目前电子计算机无法解决的问题, 诸如一些 NP-完全问题、破译密码问题等等。

目前, 国内外在 DNA 计算领域内的研究成果颇多, 大大促进了数学、化学、物理学以及计算机科学和生物科学的相互融合。DNA 自组装^[7]作为 DNA 计算的理论基础之一, 因此研究人员基于其特性来解决最大团问题^[8]、N 皇后问题^[9]、多维背包问题^[10]、二部图完美匹配问题^[11]、最大匹配问题^[12]等等。另外, 研究者们还利用 DNA 计算进行图像加密^[13], Xp 模型检

测^[14]、可满足性问题^[15]以及逻辑门的构建^[16-18]。随之产生了一系列相关技术被运用到这个新的领域中, 例如 DNA 杂交、DNA 链置换技术、荧光标记技术等。其中 DNA 链置换技术^[19-20]最为瞩目, 原因在于它的自发性, 特异性识别, 高度的灵敏性以及准确性使之成为 DNA 计算的基础之一。而作为检测分子计算是否进行的荧光标记技术也得到了长足的发展。

文中拟通过荧光标记技术以形成茎环结构^[21]构建与非逻辑门, 在该逻辑系统中, 将 365 nm 波长光照以及 Hg^{2+} 作为输入信号, 可通过碱基互补配对形成茎环结构的线性单链 DNA 分子作为输出信号, 结合荧光标记技术实现对输入信号的精确检测。接下来, 利用形成的茎环结构进一步构建逻辑半加器。在此逻辑系统中, 设计的线性单链 DNA 分子作为输入信号, 茎环结构的环区域具有 DNA 识别区域, 使得特设的线性单链 DNA 可以将茎环通过链置换反应而打开, 再结合荧光标记技术实现对输出的精确检测。

1 DNA 链置换技术与荧光标记技术

1.1 DNA 链置换技术

DNA 链置换技术是 DNA 分子计算的基础之一, 凭借着自身的能级引发性、特性识别性、准确与灵敏来实现 DNA 链的释放与结合。目前此技术已经在生物计算领域中得到了广泛的应用。

DNA 链置换反应开始于立足点区域的识别与杂交, 通过分支迁移的过程将目标链输出, 最终形成更为稳定的多链结构^[22-23]。DNA 链置换一般有可逆的链置换反应与不可逆的链置换反应两种表现形式^[24]。不同形式的 DNA 链置换原理如图 1 所示^[25]。

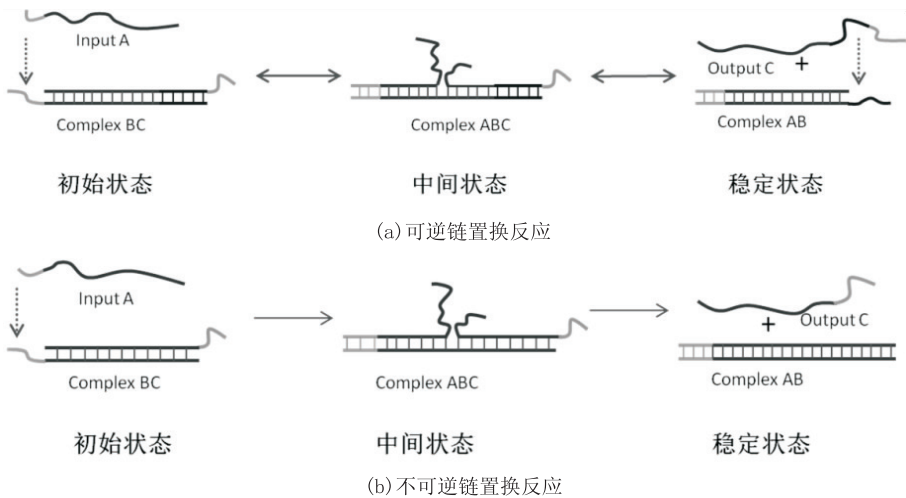


图 1 DNA 链置换原理

1.2 荧光标记技术

荧光标记技术指利用一些能发射荧光的物质共价结合或物理吸附于所要研究分子的某个基团上, 利用

它的荧光特性来提供被研究对象的信息。生物分子计算领域通过检测标记在基团上荧光分子的荧光强度相对变化量来做出某种判断。荧光猝灭是荧光基团与猝

灭基团之间产生荧光能量共振转移^[26]作用,主要表现为:

(1)当荧光基团与猝灭基团相互接近时,两基团之间的相互作用增强,荧光信号削弱乃至消失;

(2)当荧光基团与猝灭基团相互远离时,两基团之间的相互作用减弱,荧光信号得以重新恢复。

相对应的荧光标记原理如图 2 所示。

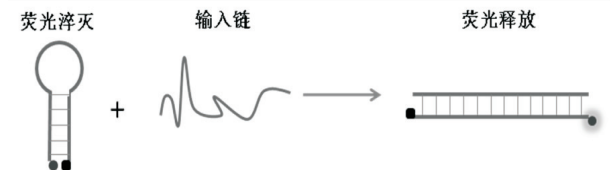


图 2 荧光标记技术原理

2 DNA 逻辑计算模型设计

2.1 与非门原理

与非门^[27]是数字电路的一种基本逻辑电路。它可以看作是由“与”门和“非”门组合而成,具有两个输入信号和一个输出信号。总而言之,在数字电路中若输入均为高电平(1),则输出为低电平(0);若输入中至少有一个为低电平(0),则输出为高电平(1)。其操作见图 3(c)。

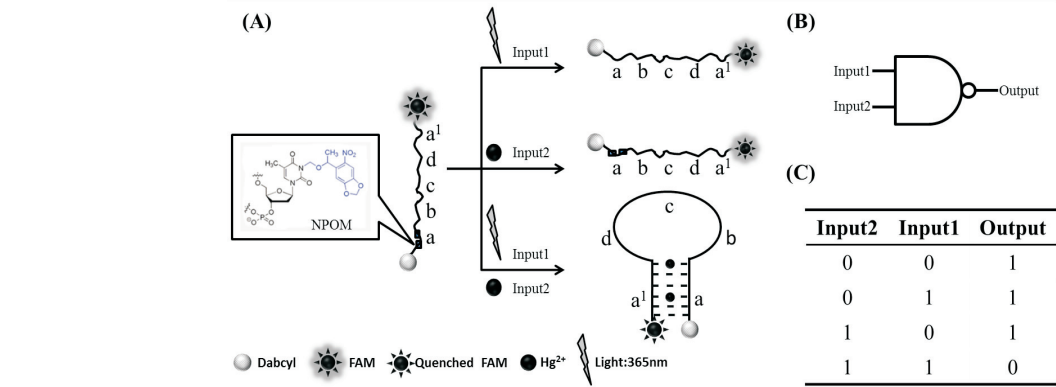


图 3 逻辑与非门操作机制

在上述分子逻辑操作中,只有当两个输入信号都存在时,没有荧光信号出现,与非门的操作有 4 种方式:

(1)当体系中只有单链 DNA 存在时,即输入(0, 0)。也就是没有任何信号输入时,荧光信号存在,逻辑输出值为 1。

(2)当只有 365 nm 波长的光照照射时,即输入(0,1)。a 区域中被 NPOM 包裹的 T 碱基暴露出来,但是由于 a 区域与 a' 区域并不能完全互补配对,所以猝灭基团与荧光基团并未结合,荧光信号依然存在,逻辑输出结果为 1。

(3)当只有金属 Hg^{2+} 离子加入体系当中,即输入(1,0)。由于 a 区域的 T 碱基被包裹,无法与 a' 区域

2.2 与非门逻辑模型设计

6-羧基荧光素(6-carboxyfluorescein, FAM)是一种常用于标记 DNA 链的荧光染料,苯甲酸(Carboxy-benzene, Dabcyl)则是作为猝灭基团标记 DNA 链。胸腺嘧啶 T 可以被 6-硝基胡椒基甲醛(6-nitro piperonyl oxymethylene, NPOM)所包裹,被包裹的 T 在受到波长为 365 nm 的光照射后便会释放出来^[28]。 Hg^{2+} 能够绑定 T-T 碱基对,使其错配形成稳定的 T- Hg^{2+} -T 结构^[29]。

如图 3(a)所示,在分子与非门的设计中,其初始状态是由可形成茎环结构的线性单链 DNA 构建。该单链 DNA 包含 a、b、c、d、a' 5 个部分。其中 a 区域与 a' 区域个别碱基互补,并且 a 区域的 T 碱基被 NPOM 包裹。在 a 区域也即单链的 5' 端用 Dabcyl 荧光猝灭基团进行修饰,a' 区域也即单链的 3' 端用 FAM 荧光基团进行修饰。起初,荧光基团与猝灭基团相互远离,故而荧光强度不变;当荧光基团与荧光猝灭基团结合之后,体系中荧光的强度会相应减弱。在该系统中,输入信号是 365 nm 波长光照以及金属 Hg^{2+} 离子,通过对荧光信号的检测判断输出结果。反应结束后,若能检测到荧光信号,表明输出结果为逻辑值 1,否则输出结果为逻辑值 0。

的 T 碱基错配成 T- Hg^{2+} -T 的结构,所以 a 区域与 a' 区域仍旧不能实现完全配对,荧光信号依然存在,逻辑输出结果为 1。

(4)当 365 nm 波长光照与金属 Hg^{2+} 同时存在时,即输入(1,1)。暴露出来的 T 碱基错配成 T- Hg^{2+} -T 结构,a 区域与 a' 区域实现完全配对,单链 DNA 形成茎环结构,荧光基团与猝灭基团结合,荧光信号减弱甚至消失,逻辑结果输出为 0。

2.3 半加器原理

半加器电路是指对两个输入数据位相加,输出一个结果位和进位,没有进位输入的加法器电路,是实现两个一位二进制数的加法运算电路。它的运算可以看作是逻辑“异或”门与逻辑“与”门组合进行并行计算

的过程。其中,“异或”门的输出结果为和位,“与”门的输出结果当进位。半加器的计算过程见图 4(C)。

2.4 半加器逻辑模型设计

G-四链体是由富含鸟嘌呤碱基 G 的 DNA 或 RNA 序列形成的一种特殊的核酸二级结构^[30]。G-四链体 DNA 酶则是由 G-四链体与氯化血红素(Hemin)结合后形成的具有辣根过氧化物酶活性的 DNA 酶^[31]。这种 DNA 酶可催化双氧水(H₂O₂)氧化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)产生肉眼可见的可溶性蓝色产物^[32]。

如图 4(a)所示,在半加器的设计中,其初始状态为与非门产生茎环结构。茎环结构中的 b 和 c 区域都有识别区域,可以分别与设计的 Ha-In1 与 Ha-In2 两条 DNA 单链的 c* 区域与 b* 区域互补。链 Ha-In1 与链 Ha-In2 互补,并且链 Ha-In1 的 5' 端与链 Ha-In2 的 3' 端富含 G 碱基,可以相互反应生成 G-四链体结构。在该系统中,输入信号是单链 DNA,通过检测荧光信号来判断输出结果,反应结束时,如果能检测到荧光信号,则判断输出结果为逻辑值 1,否则逻辑值为 0。

在上述分子逻辑操作中,如果没有输入信号,逻辑值为 0;如果有输入信号,逻辑值为 1。半加器的操作有 4 种方式:

(1)当体系中没有任何输入时,即输入为(0,0)。茎环结构(M)中荧光基团与猝灭基团结合,没有荧光信号发出,逻辑输出结果为(0,0)。

(2)当输入链 Ha-In1 时,即输入为(0,1)。链 Ha-In1 与茎环结构(M)结合形成双链,通过链置换反应将茎环结构打开,荧光基团与猝灭基团分离,从而产生荧光基团 FAM 产生荧光。逻辑输出结果为(0,1)。

(3)当输入链 Ha-In2 时,即输入为(1,0)。链 Ha-In2 与茎环结构(M)结合形成双链,通过链置换反应将茎环结构打开,荧光基团与猝灭基团分离,从而产生荧光基团 FAM 产生荧光。逻辑输出结果为(0,1)。

(4)当输入链 Ha-In1 与链 Ha-In2 时,即输入为(1,1)。链 Ha-In1 与链 Ha-In2 之间相互反应配对,富含 G 碱基的一端形成 G-四链体结构,该结构与 Hemin 结合从而促进 H₂O₂ 氧化 TMB 为蓝色的 TMB⁺。茎环结构未被打开,荧光基团与猝灭基团相互作用,没有荧光信号发出,逻辑输出结果为(1,0)。

2.5 序列设计

文中涉及到的 DNA 链是利用 NUPACK 仿真软件^[33]设计得出,如表 1 所示。在序列设计的过程中,以碱基互补配对为原则,并结合模型的需要,进行些许调整。

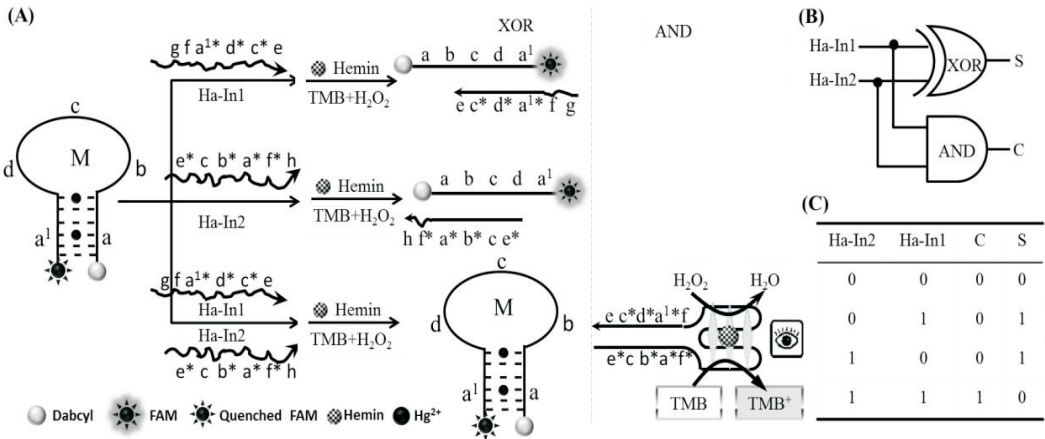


图 4 半加器操作机制

表 1 序列编码

DNA 链	序列编码(5'-3')
a b c d a ¹	Dabcyl-GAT * CGT * GCAC CAGCTG CACT TCGTTC-FAM
Ha-In1 (gfa ¹ * d * c * e)	GGGT ATTAATG GAACGA CGTA CAGCTG GTA
Ha-In2 (e * c b * a * f * h)	TAC CAGCTG GTCG ACGTTC CATTAAT TGGGCGGGAAGGG

3 结束语

基于 DNA 链置换技术,以单链 DNA 作为基本计算材料,结合重金属离子与 DNA 之间的特殊反应,通过荧光标记技术构建组成复杂逻辑电路的组成单元—

逻辑门。在简单逻辑门的基础上寻求构建更加稳定的 DNA 分子计算逻辑模型,以实现可组装的功能化的 DNA 分子逻辑组件。随着技术的进步,DNA 计算理论还将继续蓬勃发展,DNA 计算模型也可能终将走出试管,走向标准化的 DNA 计算芯片。DNA 计算中的

“图灵机”或许就诞生于不久的将来,生物计算时代的明天会更加美好。

参考文献:

- [1] 张文逸,殷志祥. 基于 DNA 链置换的分子逻辑门计算模型[J]. 安徽理工大学学报:自然科学版,2015,35(1):7-10.
- [2] OGIHARA M, RAY A. Simulating Boolean circuits on a DNA computer[J]. *Algorithmica*, 1999, 25(2-3):239-250.
- [3] FEYNMAN R P. There is plenty of room at the bottom [M]//*Minaturization*. [s. l.]:[s. n.], 1961:282-296.
- [4] ADLEMAN L M, LEONARD P, ADLEMAN M. Molecular computation of solutions to combinatorial problems[J]. *Science*, 1994, 266(5187):1021-1024.
- [5] 牛合利. DNA 计算问题的研究进展[J]. 科技资讯, 2008(17):2.
- [6] 王淑栋,许进,张成. DNA 计算及其应用简介[J]. 数学建模及其应用, 2014, 3(3):18-25.
- [7] 杨静,张成. DNA 自组装技术的研究进展及难点[J]. 计算机学报, 2008, 31(12):2138-2148.
- [8] 李肯立,罗兴,吴帆,等. 基于自组装模型的最大团问题 DNA 计算算法[J]. 计算机研究与发展, 2013, 50(3):666-675.
- [9] 吴帆,李肯立. 基于自组装的 N 皇后问题 DNA 计算算法[J]. 电子学报, 2013, 41(11):2174-2180.
- [10] 牛莹,张勋才,范瑞丽,等. 三维 DNA 自组装在多维背包问题中的应用研究[J]. 科学技术与工程, 2013, 13(36):10787-10793.
- [11] 蓝雯飞,邢志宝,黄俊,等. DNA 自组装计算模型求解二部图完美匹配问题[J]. 计算机研究与发展, 2016, 53(11):2583-2593.
- [12] 周旭,周炎涛,李肯立,等. 基于 Tile 自组装模型的最大匹配问题算法研究[J]. 电子学报, 2015, 43(2):262-268.
- [13] 李孝东,周彩兰,黄林荃. 基于 DNA 编码的安全高效的图像加密算法[J]. 计算机应用与软件, 2018, 35(1):318-324.
- [14] 韩英杰,朱维军,焦林枫,等. 线性时序逻辑公式 Xp 模型检测的 DNA 计算方法[J]. 小型微型计算机系统, 2017, 38(3):553-558.
- [15] 马莹,殷志祥,方欢. 可满足性问题生物芯片 DNA 算法[J]. 计算机应用研究, 2017, 34(8):2310-2311.
- [16] 崔光照,王茜,张俊亚,等. 基于 DNA 链置换反应的圆环形逻辑门设计[J]. 轻工学报, 2016, 31(1):55-60.
- [17] 夏宏,张实君. 基于分子计算的逻辑模型构建[J]. 科技通报, 2016, 32(5):11-15.
- [18] 高建帮. 基于氯化血红素对 G-四链体/盐酸小檗碱复合物的竞争作用构建 DNA 逻辑门[J]. 西南大学学报:自然科学版, 2016, 38(11):119-123.
- [19] 姚莉娜,田桂花,叶盟盟,等. DNA 链置换技术的研究现状与展望[J]. 郑州轻工业学院学报:自然科学版, 2014, 29(1):15-21.
- [20] 万菲,董晨,杨静,等. DNA 计算技术的发展与应用[J]. 中国科学院院刊, 2014, 29(1):94-105.
- [21] 王红钢. 适当的茎环结构促进 GFP 报告基因表达的机制研究[C]//河北省免疫学会第六次免疫学大会资料汇编. 石家庄:河北省免疫学会, 2010:1.
- [22] ZHANG D Y, WINFREE E. Control of DNA strand displacement kinetics using toehold exchange[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(47):17303-17314.
- [23] ZHANG D Y. Towards domain-based sequence design for DNA strand displacement reactions[C]//*Proceedings of the 16th international conference on DNA computing and molecular programming*. Hong Kong, China: Springer, 2011:162-175.
- [24] SHI Xiaolong, WANG Zhiyu, DENG Chenyan, et al. A novel bio-sensor based on DNA strand displacement[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(10):1-16.
- [25] 李明慧. 基于 DNA 链置换的核酸逻辑计算模型的研究[D]. 西安:陕西师范大学, 2016.
- [26] 薛斌军. 基于荧光标记发夹式 DNA 探针的汞离子定量检测技术的研究[D]. 太原:太原理工大学, 2017.
- [27] 刘文斌. 与非门(NAND)的 DNA 计算模型[J]. 生物数学学报, 2008, 23(2):357-363.
- [28] PROKUP A, HEMPHILL J, DEITERS A. DNA computation: a photochemically controlled AND gate[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(8):3810-3815.
- [29] 王忠霞,张立,梁汝萍,等. 基于 Hg^{2+} 和 Ag^+ 对 DNA 修饰金纳米粒子的作用构建 DNA 逻辑门[J]. 化学传感器, 2012, 32(1):36-37.
- [30] HUPPERT J L. Structure, location and interactions of G-quadruplexes[J]. *FEBS Journal*, 2010, 277(17):3452-3458.
- [31] TRAVASCIO P, LI Yingfu, SEN D. DNA-enhanced peroxidase activity of a DNA aptamer-hemin complex[J]. *Chemistry & Biology*, 1998, 5(9):505-517.
- [32] 邵湾. 基于 G-四链体构建 DNA 比色逻辑门的研究[D]. 南昌:南昌大学, 2015.
- [33] ZADEH J N, STEENBERG C D, BOIS J S, et al. NUPACK: analysis and design of nucleic acid systems[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2011, 32(1):170-173.