

协同 DNA 计算机解空间问题的模块化设计方案

王延峰^{1,2}, 崔光照^{1,2}

(1. 华中科技大学控制科学与工程系, 武汉 430074; 2. 郑州轻工业学院电气信息工程学院, 郑州 450002)

摘要: 提出了一种基于检测型生物芯片的协同 DNA 计算机解空间问题的模块化解决方案。为了解决解空间检测这个问题, 该文总结了目前典型的 DNA 计算模型中所用到的生物检测技术, 在先前的协同 DNA 计算机基本组成原理模型的基础上, 结合了当前检测型生物芯片技术的发展趋势, 提出了解决方案, 并对各模块的工作原理、功能等进行了介绍, 给出了问题与展望。

关键词: 检测型生物芯; DNA 计算; 解空间; 毛细管电泳

Modularization Scheme for Solving Solution Space Detection Problem of DNA Computer with Coprocessor

WANG Yanfeng^{1,2}, CUI Guangzhao^{1,2}

(1. Department of Control Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074;

2. College of Electrical and Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002)

【Abstract】 This paper presents a new modularization scheme for solving the solution space detection problem of DNA computer with coprocessor by using biochip for detection. For the purpose of trying to overcome the obstacle, the biological detection technologies applied to the typical DNA models are summarized. Based on the DNA computer with coprocessor organization model represented formerly and the general development tendency of biochip for detection, the solving scheme is proposed. It introduces the principle and function of each module. The questions and expectations are provided.

【Key words】 Biochip for detection; DNA computing; Solution space; Capillary electrophoresis

1 概述

DNA 计算是一种非传统计算模式, 是自然计算领域中比较活跃的一个分支。利用 DNA 分子解决计算问题基于两个原则: DNA 分子的 Watson-Crick 互补原则和 DNA 链生化反应的巨大并行性。前者可以转换为计算机的通用语言, 而后者则使利用穷举法解决困难类和不可计算类问题, 成为可能。

DNA 计算模型算法的生物实现有如下 3 种方式:

(1) 试管方式: DNA 计算的初级阶段, 用于验证算法的可行性;

(2) 表面方式: 从试管走向芯片的过渡;

(3) 芯片方式则: DNA 计算机最终实现的必由之路。

受生物工程技术的制约, 目前 DNA 计算主要是在试管和表面两种方式下进行。即便如此, 由于受实验条件的限制, 所解决的问题规模非常有限, 不能真正地体现出 DNA 计算模式的优越性, 实际应用价值不大。在技术层面上, DNA 计算机最终实现的瓶颈是生物工程技术。首先是生化操作的自动实现; 其次是 DNA 的分离和提取技术, 即 DNA 计算机解空间的检测问题。

生物芯片(Biological Chip)是近些年迅速发展起来的以微加工技术、生化技术为依托, 将生命科学研究中许多不连续的过程集成到一块芯片上, 并使之连续化、微型化, 进而实现对大量生物样品和指标进行快速并行处理的一项综合性高新技术。

生物芯片技术的迅猛发展, 为基于 DNA 计算模式计算机的实现提供了可能。

2 DNA 计算中常用的生物检测技术

1994 年, Adleman 首次提出了有向哈密顿路问题的 DNA 算法, 并得以验证。Adleman 试验的设计思想是首先让有向图的每个顶点随机对应于一条长度为 20bp 的寡聚核苷酸, 让图中的每条边对应由此而确定的长度为 20bp 的寡聚核苷酸, 然后加入适量的连接酶, 通过 PCR 扩增技术获得从起点到终点的所有有向路, 最后通过凝胶电泳检测出最优解。1995 年, Lipton 仿效 Adleman 的方法给出了 SAT 问题的 DNA 计算模型, 其基本思想是: 令 SAT 问题的每个可行解对应于一个 n 位二进制数, 通过构造简单接触网络 G , 将 n 位二进制数据池对应于网络 G 的从起点 a_1 到终点 a_{n+1} 的有向路, 然后根据 Watson-Crick 互补原理, 构造 DNA 数据池, 通过 4 种基本的分子生物技术, 得到 SAT 问题的全部解。1998 年, Cukras 和 Faulhammer 等人实现了 Lipton 的上述设计, 并通过凝胶电泳实现解的萃取。此后, 许多学者又给出了基于试管方式的诸多困难类问题的 DNA 计算模型与实验结果。但所用的检测方法大都为凝胶电泳和荧光标记检测。

2000 年, 表面 DNA 计算模型的典型代表 Liu 等人对可满足性问题进行了基于表面实验的 DNA 计算。检测方法凝胶电泳和荧光标记检测。潘林强和殷志祥分别给出了图的最

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(60373089, 60573190); 河南省自然科学基金资助项目(511011600, 0211050900)

作者简介: 王延峰(1973—), 男, 讲师、博士生, 主研方向: DNA 计算, 基因网络; 崔光照, 教授、博士生

收稿日期: 2005-10-27 **E-mail:** wangyf@mail.hust.edu.cn

大团问题和图的着色问题以及最小顶点覆盖问题的表面 DNA 计算模型, 检测方法是都是凝胶电泳和荧光标记检测。

关于芯片形式, 张风月给出了基于芯片技术的 0-1 规划 DNA 计算模型, 检测方法是凝胶电泳和荧光标记与激光共聚焦显微镜技术。

总之, 不论是试管方式、表面方式还是芯片方式, 在 DNA 计算过程中, 都需要利用生物检测技术来进行解的萃取。只是根据实际情况的不同而检测环节略有差异。

3 设计方案

提出协同 DNA 计算机思想的背景是为了充分发挥传统计算模式(传统数字计算机计算模式)和非传统计算模式(DNA 计算模式, 或指更一般意义上的自然计算模式)的优势。DNA 计算, 在求解需用穷举搜索方法求解的复杂问题上, 具有传统数字计算机所无法比拟的天然优势。

3.1 协同 DNA 计算机组成

协同 DNA 计算机体系结构框图如图 1 所示。图中实线为控制线, 虚线为反馈线, 双线为数据线。

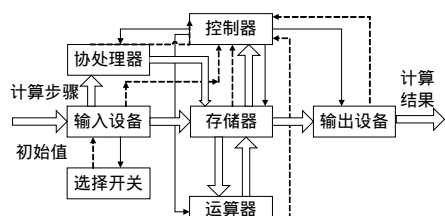


图 1 协同 DNA 计算机结构

协同 DNA 计算机结构中各组成单元功能有：(1)协处理器用来执行 DNA 计算, 并将计算结果暂存于协处理器内；(2)选择开关用于两种计算模式的选择；(3)控制器、运算器、存储器、输入设备和输出设备等单元功能等同于数字计算机。

根据 DNA 计算原理, DNA 计算机协处理器的物理结构应包括样品制备单元、微生化反应单元、结果的检测、分析单元和微控制单元。DNA 计算机协处理器内部构造如图 2 所示。其中, 实线为控制线, 虚线为反馈线, 双线为数据线。

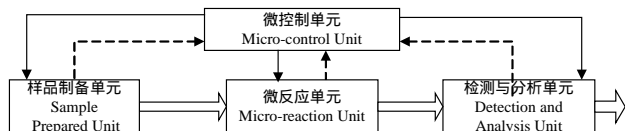


图 2 DNA 计算机协处理器内部构造

协处理器各组成单元功能如下：

(1)样品制备单元主要是在微控制单元的参与下, 根据实际问题的需要, 通过系列相关生化操作, 完成从原始生物样品到适用于后续生化反应和生物检测的 DNA 链的制备；

(2)微反应单元主要是在微控制单元的参与下, 快速准确地完成杂交反应；

(3)检测与分析单元主要是在微控制单元的参与下, 完成待测样品的杂交图谱, 借助特定的分析软件来分析量化的数据；

(4)微控制单元的主要功能是用来控制和指挥上述 3 个功能单元协调有序地完成物理和生化操作过程。

3.2 解空间检测方案

在 DNA 计算中, 解的萃取要么是首先经电泳分离, 然后通过生物检测设备进行解析；要么是在生化反应后根据需要, 马上进行检测。另外, 考虑到由于生物样品的多样性和复杂性而带来检测方法的多样性以及便于控制和方便调用检

测, 专用分析程序, 采用模块化设计方法。考虑到实际情况和模块的扩展和维护, 数据传输采用总线型结构。提出了协同 DNA 计算机解空间检测方案, 如图 3。

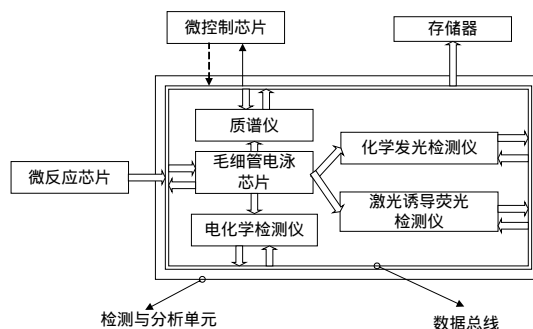


图 3 协同 DNA 计算机解空间检测方案

3.3 各模块原理功能

3.3.1 毛细管电泳芯片

Hjerten 于 1960 年发明了毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis, CE)。1981 年 Jorgenson 和 Lukacs 通过实验证明了毛细管电泳的超群分离效能。毛细管电泳具有分离效率高、芯片设计灵活多样及其易与其它系统集成等优点, 很快成为分析化学的新趋向。

(1)基本原理

毛细管电泳芯片与普通毛细管电泳在工作原理上没有本质区别, 只是在形式和操作上有所不同。其工作原理是：在电场作用下, 利用生物物质样品中各成分在缓冲液中迁移速率的不同而实现分离, 分离后样品中的待检离子依次通过设在毛细管一端的检测器检出。毛细管电泳有多种运行模式。

毛细管凝胶电泳是将平板电泳的凝胶移到毛细管中作支持物进行电泳, 不同体积的溶质分子在起“分子筛”作用的凝胶中得以分离。常用的凝胶有聚丙烯酰胺 (Polyacrylamide) 和琼脂糖 (Agarose)。

聚丙烯酰胺凝胶主要是通过控制凝胶浓度、交联度的大小、凝胶的孔径大小, 从而起到分子筛的作用。

聚丙烯酰胺凝胶的优点是：1)不产生吸附, 消除电渗现象；2)减小分子扩散, 抗对流；3)具有分子筛效应, 迁移时间能反映出组分分子量的大小；4)在一定范围内透明, 机械强度好, 有弹性。

琼脂糖凝胶的诸多不利因素(如易引起电渗流、凝胶在散热不好时不稳定)制约了琼脂糖凝胶在毛细管电泳中的应用。琼脂糖凝胶的孔径较大, 对于分离 DNA 是很有用的, 具研究价值。

研究内容主要包括 1)不同缓冲体系对柱效及稳定性的影响；2)内壁的预处理；添加剂对柱的影响；3)凝胶浓度的改变对柱性能的影响；4)温度对分离的影响等。

(2)重要参数^[2]

1)电迁移率

传统电泳动力来自于电泳力, 而毛细管电泳的动力是电泳力和电渗力的合力。物质电迁移率的计算公式如下：

$$u_{ap} = u_{ep} + u_{eo} \quad (1)$$

其中, u_{ap} 表示电迁移率, u_{ep} 表示电泳力分量, u_{eo} 表示电渗力分量。

2)电渗流(Electro Osmosis Flow, EOF)

电渗流是毛细管电泳中一个十分重要的现象。毛细管管

壁表面带有电荷,在溶液中形成双电层,当外加电场作用时,就形成电渗流。电渗流的流速用式(2)表示:

$$u_{eo} = \frac{\varepsilon\zeta}{4\pi\eta} E \quad (2)$$

其中, ε 为介电常数, η 为缓冲液的粘度, ζ 为管壁附近剪切面的 zeta 电势。

电渗流是毛细管电泳技术的关键。在多数情况下,电渗流比电泳速度快 5~7 倍,电渗力作为电泳的主要推动力,而电泳力和阻滞力共同产生分离作用。通过对电渗流大小和方向的控制,可以影响电泳分离的效率、选择性和分离度,成为优化分离条件的重要参数。

3) 分离效率与分离度

分离效率用理论塔板数衡量,公式如下:

$$N = (u_{ep} + u_{eo}) \frac{El}{2D} \quad (3)$$

其中, N 为理论塔板数, l 为迁移距离, D 为溶质扩散系数。

分离度也称分辨率,是指毛细管电泳将物质分开的能力。计算方法如下:

$$R = 0.177(\mu_1 - \mu_2) \sqrt{\frac{El}{D(\mu + \mu_{eo})}} \quad (4)$$

其中, μ_1, μ_2 为两种物质的表现淌度, μ 为平均值, μ_{eo} 为电渗流的淌度, D 为溶质的扩散系数, l 为迁移距离, E 为电场强度。为了既保证分离度,又缩短分离时间,在实际操作中,一般将分离度控制在 1.25 以下。

除了上述参数以外,在实际操作中,还要考虑的因素包括区带展宽、焦耳热等。上述这些因素紧密联系并相互制约。在实际应用中,应综合考虑各方面因素,权衡选择合适参数。有关这方面的详细论述,请参阅文献[2]。

3.3.2 激光诱导荧光检测仪

目前,最常用的生物芯片检测技术是荧光法。其优点是标记分子体积小、安全、储存期长,而且检测灵敏度适中;缺点是检测所用的光学设备复杂、体积庞大、价格昂贵,不利于微型化和普及使用。在其微型化方面,人们正在进行不断的努力。Webster 等在毛细管电泳芯片上加工出光敏二极管接受荧光信号,将检测设备与芯片集成在一起,在微型化方面迈出了重要的一步。此外,如何实现对毛细管电泳阵列芯片的 LIF 检测也是一个重要问题。

解决方案是:

(1) 将芯片固定在移动平台上,相对于检测设备做快速移动;

(2) 利用声波改变激光的偏转方向实现对各个管道的扫描等。

3.3.3 电化学检测仪

电化学检测法可避免光学类检测器遇到的光程太短的问题。电化学检测法分为 3 类:电压检测,电导率检测和电流检测。制约其应用的问题主要有以下两个:

(1) 在外加分离电压的情况下,管道中的电流会对检测电极有干扰,使检测灵敏度降低;

(2) 检测结果的重复性,电极的位置对检测影响很大。随着微电子加工技术的发展,尤其是微电极的使用,通过对微流体电化学检测芯片系统的集成化和微型化,可使得毛细管

电泳芯片与检测系统有机结合起来。

3.3.4 化学发光检测仪

由于化学发光检测无需光源,设备体积较小,使其成为一种比较有竞争力的检测方法。常用的化学发光剂有鲁米诺(Luminol)、过氧化酸(Peroxyoxalate)和钌(Ru)络合物(Ruthenium(Ru)Complex)等。但常规毛细管电泳与其接口较为复杂,引入的体积和湍流现象造成分离效率下降,可通过精细加工技术,制作死体积的柱后反应器,来避免这些问题^[3]。

3.3.5 质谱仪

对毛细管电泳芯片来说,质谱仪是比较理想的检测器。

优点主要包括:

- (1) 可用于物质的分子量鉴定和分子结构的解析;
- (2) 检测浓度在微摩尔水平及以下;
- (3) 进样量少;
- (4) 样品的准备工作简单,不需衍生化。

毛细管电泳芯片与质谱仪联机(CE/MS)是一种很有发展前景的集成技术。CE/MS 联用主要在两方面发展:

- (1) 各种 CE 模式和 MS 联用;
- (2) CE 和各种 MS 联用。

关键技术是接口装置。成功地应用到 CE/MS 接口中的离子化技术有电喷雾(ESI)、离子喷雾(ISP)等。电喷雾离子化是目前最常用的毛细管电泳芯片与质谱仪联机的离子化方法。

在设计毛细管电泳芯片与质谱仪联机接口时,应考虑的因素有:

- (1) ESI 的稳定性和可重复性;
- (2) 操作条件易于优化;
- (3) 接口须与所有的分离方法匹配;
- (4) 可保持高效分离;
- (5) 灵敏度。

联机接口可以分为两类:

- (1) 是利用毛细管为桥梁来连接芯片与 MS;
- (2) 是微加工的联机接口^[4]。

4 问题与展望

检测仪器的分辨率是生物芯片的重要瓶颈,直接影响着检测结果的精确性和可靠性,进而影响最终计算结果。另外,由于生物样品的复杂性和多样性,制造出一种可适用于任意样品检测芯片是不可能的。检测型生物芯片的发展目标应是易于集成、易于自动化控制、便于携带。而检测系统及其接口的研制、微型化、在高处理通量中的使用,无疑是最为重要的。如何提高其灵敏度和处理通量是其未来研制工作的重点,其发展方向将是模块式或积木式,在实际运用中,可以根据需要搭建检测微型平台。

参考文献

- 1 董亚非. 若干DNA计算粘帖模型的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2004.
- 2 邢婉丽, 程京. 生物芯片技术[M]. 北京: 清华大学出版社, 2004.
- 3 金亚, 温涛, 王义明等. 集成毛细管电泳芯片(微流控芯片)系统的检测器研究和应用[J]. 现代科学仪器, 2001, 21(4): 15-17.
- 4 赵晓光, 薛燕. 迅速发展中的生物质谱仪及相关高新技术[J]. 仪器仪表学报, 2002, 23(5): 237-240.