

Metody bioinformatyki

# Obliczenia molekularne na bazie DNA

prof. dr hab. Jan Mulawka



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

**UNIA EUROPEJSKA**  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Prowadzenie obliczeń –  
już jaskiniowcy liczyli na  
kamieniach, palcach

Powstanie liczydeł, zegarów,  
kalkulatorów – dominacja i  
sukces technik obliczeniowych  
implementowanych na  
komputerach elektronicznych –  
ingerencja w styl życia człowieka

Dalsze dobre perspektywy  
rozwoju technik informacyjnych

# Komputery – rodzaj realizacji

- w ciele stałym – półprzewodniki
- przepływowe – płyny
- przepływowe - gazy

# Komputery – medium obliczeniowe

- elektroniczne – elektrony
- nieelektroniczne
  - mechaniczne
  - kwantowe
  - biochemiczne na DNA (biologiczne)
  - chemiczne
    - białkowe
    - specjalne związki

# Komputery kwantowe

- Proces obliczeniowy zaczyna się w izolowanych nadprzewodzących pętlach, gdzie kubity znajdują się w stanie podstawowym
- Następuje przemiana adiabatyczna – proces termodynamiczny, w trakcie którego izolowany układ kubitów nie nawiązuje przemiany ciepła
- Całość energii jest przekazywana bądź odbierana z układu jako praca
- Rezultatem tej przemiany jest stan będący odpowiedzią na problem, który maszyna miała rozwiązać

# Zalety komputerów kwantowych

- Zastosowania do faktoryzacji, łamania kodów, kryptografii
- Wykorzystanie teorii fizyki kwantowej
- Obliczenia są stochastyczne
- Przełamanie złożoności obliczeniowej algorytmu NP-zupełnego
- Zadania wykonywane przez te maszyny w ciągu paru sekund standardowym komputerom zajęłyby lata (maszyna D-Wave Two)

# Komputery - zastosowania

## Komputery ogólnego zastosowania

- automaty
- maszyna Turinga
- maszyna von Neumanna

## Komputery dedykowane

- maszyny wnioskujące
- systemy logiczne
- smart sensors
- transducers

# Obliczenia molekularne

- Obliczenia molekularne to algorytmy technik informacyjnych implementowane w czasie reakcji chemicznych lub w warstwach cienkich złożonych molekuł
- Molekuły przenoszą informację, reakcje chemiczne ją przetwarzają.
- Badania nad obliczeniami molekularnymi są sponsorowane przez uniwersytety (Princeton, MIT, USC, Rutgers, etc) oraz firmy takie jak NEC, Lucent Bell Labs, Telcordia, IBM



- Dzięki technologii lab-on-a-chip możliwość przeprowadzania reakcji chemicznych w formie zminiaturyzowanej o dużym stopniu automatyzacji przy jednocześnie niższych kosztach
- Dynamiczny rozwój inżynierii genetycznej i molekularnej diagnostyki medycznej
- Potrzeba opracowania nowych sposobów przetwarzania informacji: przełamywanie barier wynikających z technologii scalonych układów elektronicznych
- Otwiera się nowy interdyscyplinarny obszar badań naukowych – komputery biomolekularne (biokomputery)

# Komputer biomolekularny - Shapiro

Jest autonomiczną programowalną maszyną liczącą, której sygnał wejściowy, sygnał wyjściowy, “software” oraz “hardware” są implementowane na molekułach.

# Dla komputerów na DNA (automaty)

- sygnał wejściowy, wyjściowy – cząsteczki DNA
- software: reguły zmiany stanu – zakodowane na cząsteczkach DNA
- hardware: cięcie cząsteczek DNA odpowiednimi enzymami

# Rodzaje komputerów przepływowych na DNA

- DNA jest tylko medium obliczeniowym
  - hardware: odpowiednie reaktory przepływowe
  - software: sterowanie przepływami i reakcjami
- DNA odgrywa rolę medium obliczeniowego oraz może pełnić rolę procesora
  - hardware: w postaci różnych cząsteczek
  - software: odpowiedni algorytm sterujący

# Hybrydowy komputer przepływowy na DNA

- Obliczenia molekularne na DNA realizowane w lab-on-a-chip
- Sterowanie pneumatyczne zaworami w lab-on-a-chip

# Zalety komputerów molekularnych

- Implementacja w nanotechnologii
- Możliwość obliczeń równoległych i wieloprocessorowych
- Obliczenia są stochastyczne
- Są one dostosowane do środowiska badawczego inżynierii genetycznej, biologii, chemii i medycyny

# Podział biokomputerów

## 1. autonomiczne

Nie wymagają udziału laboranta w trakcie obliczeń.

Obliczenia w trzech krokach: przygotowanie molekuł wejściowych, właściwa reakcja, odczytanie wyniku.

Udział człowieka jest niezbędny tylko w pierwszym i ostatnim kroku, przetwarzanie danych w probówce odbywa się samoczynnie.

## 2. nieautonomiczne

# Modele biokomputerów

1. model filtrowania

2. model splatania

Wykorzystuje naprzemienne działanie enzymu ligazy oraz enzymu restrykcyjnego.

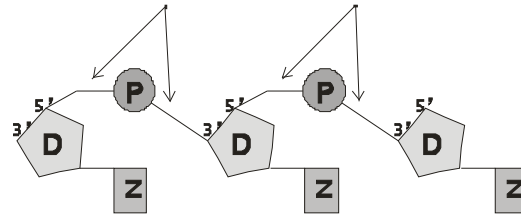
3. model oparty na samoskładaniu

4. model oparty na membranach

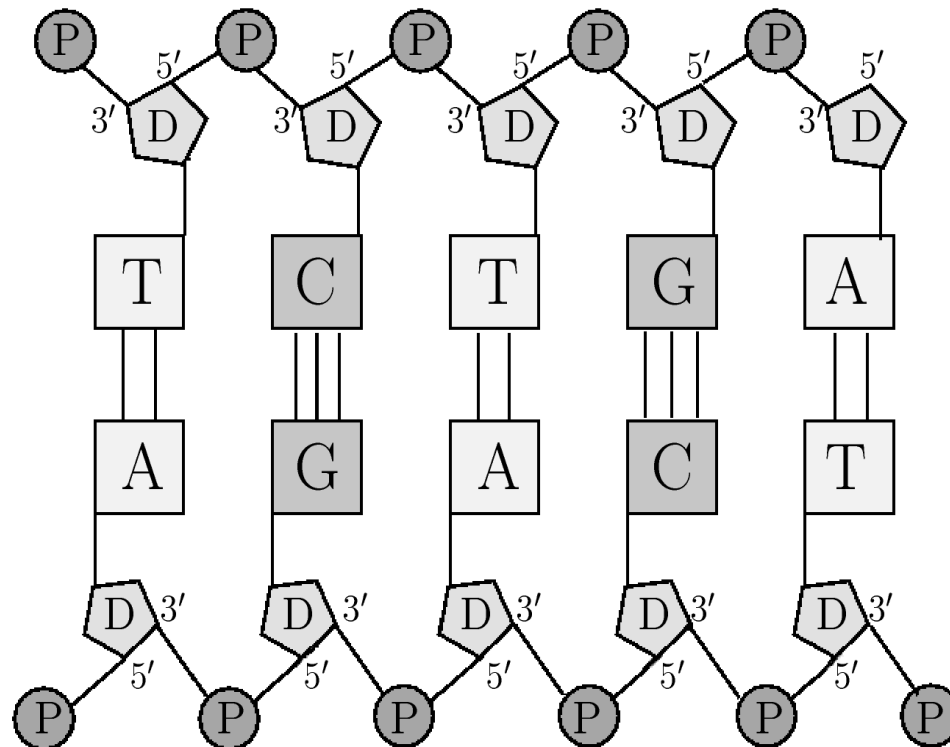


# DNA struktura molekularna

- Pojedyncza nić DNA zwana też oligonukleotydem, odcinkiem DNA

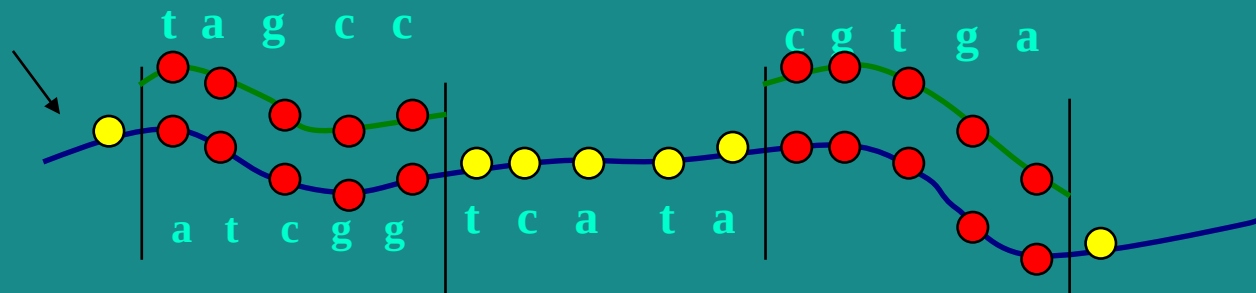
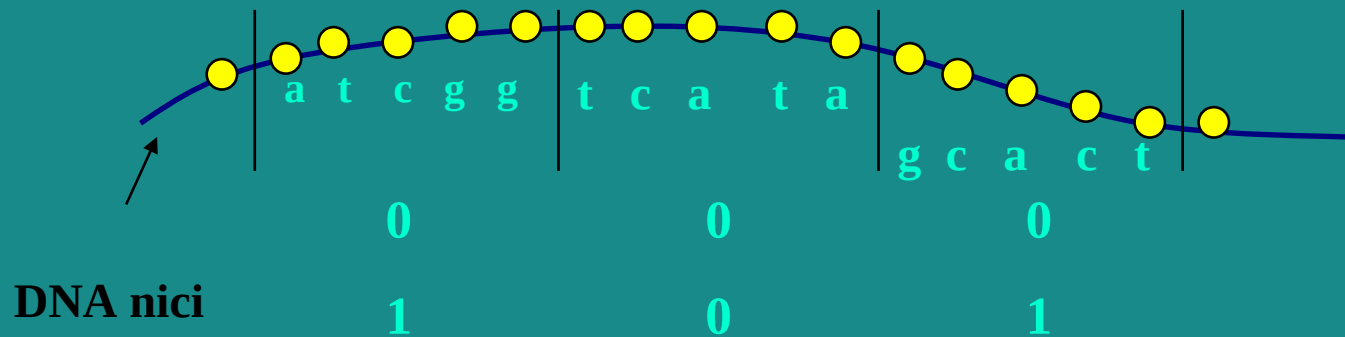


- Podwójny odcinek DNA



# Zapis informacji na DNA

## Tworzenie nici DNA

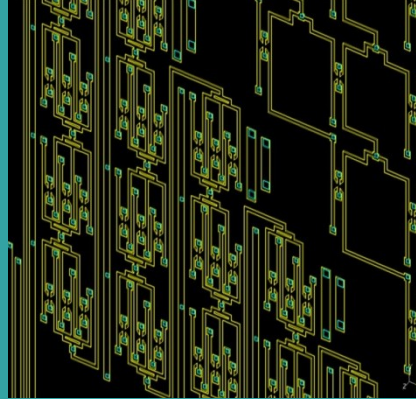


## Czytanie nici DNA

# Molecular Computer on a Chip



+

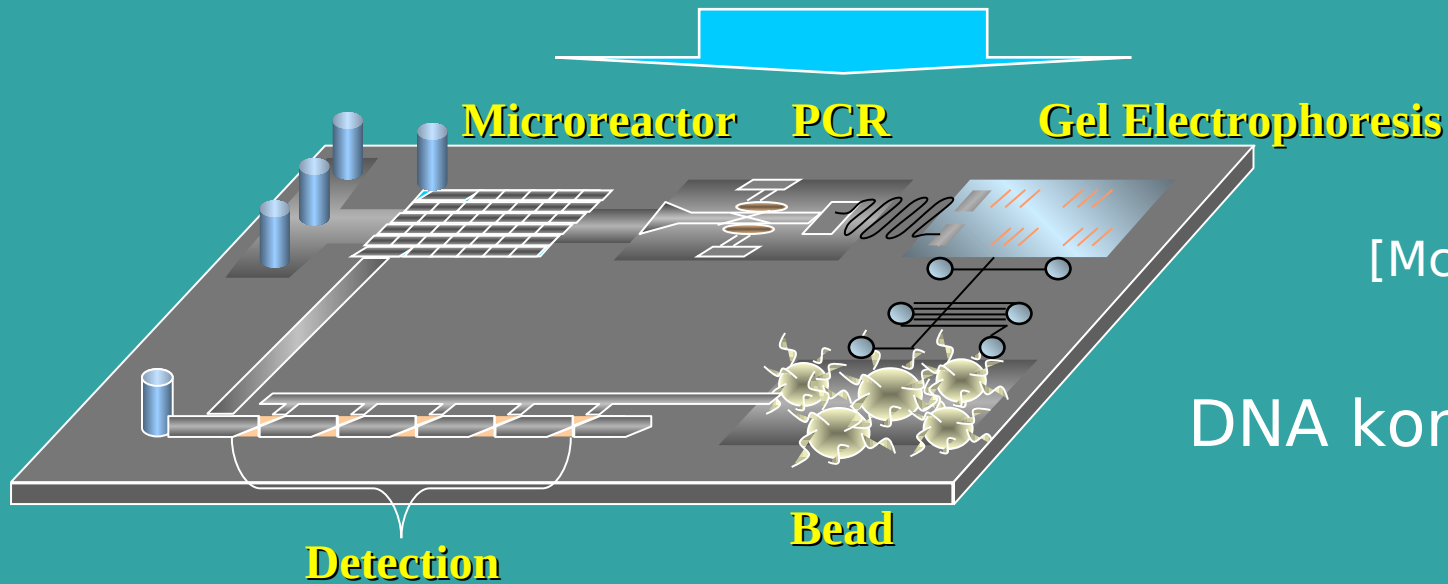


=



Algorytm  
obliczeń na DNA

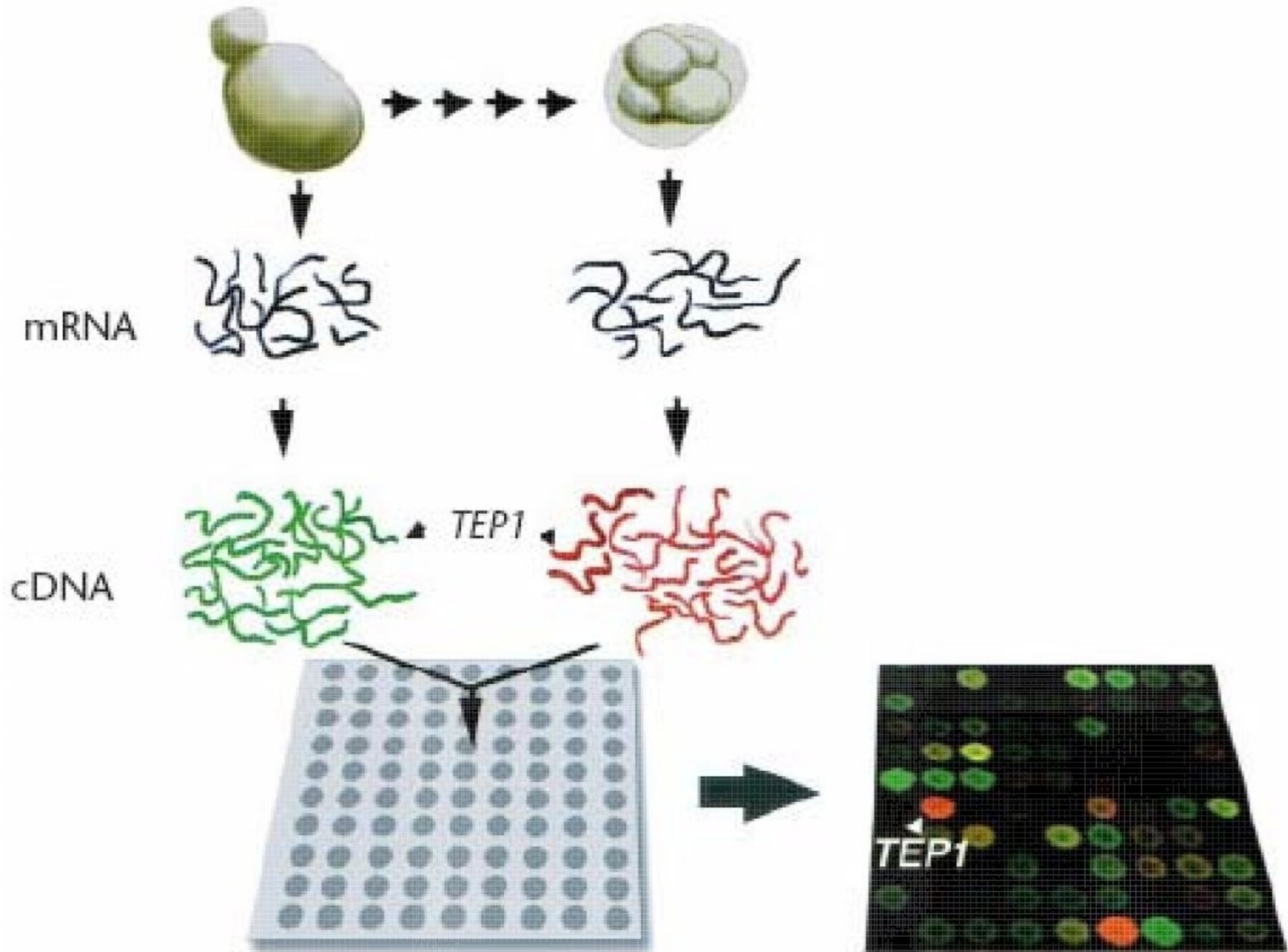
MEMS (Microfluidics)

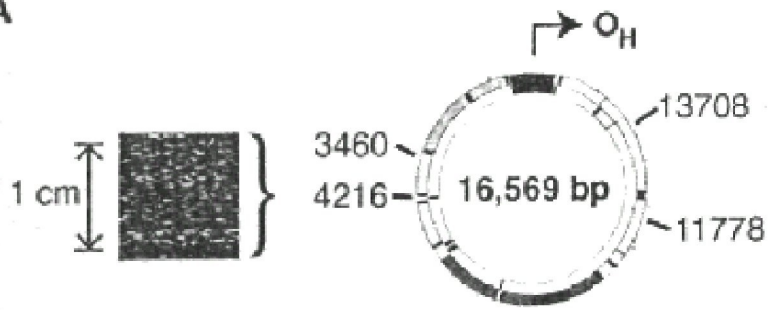
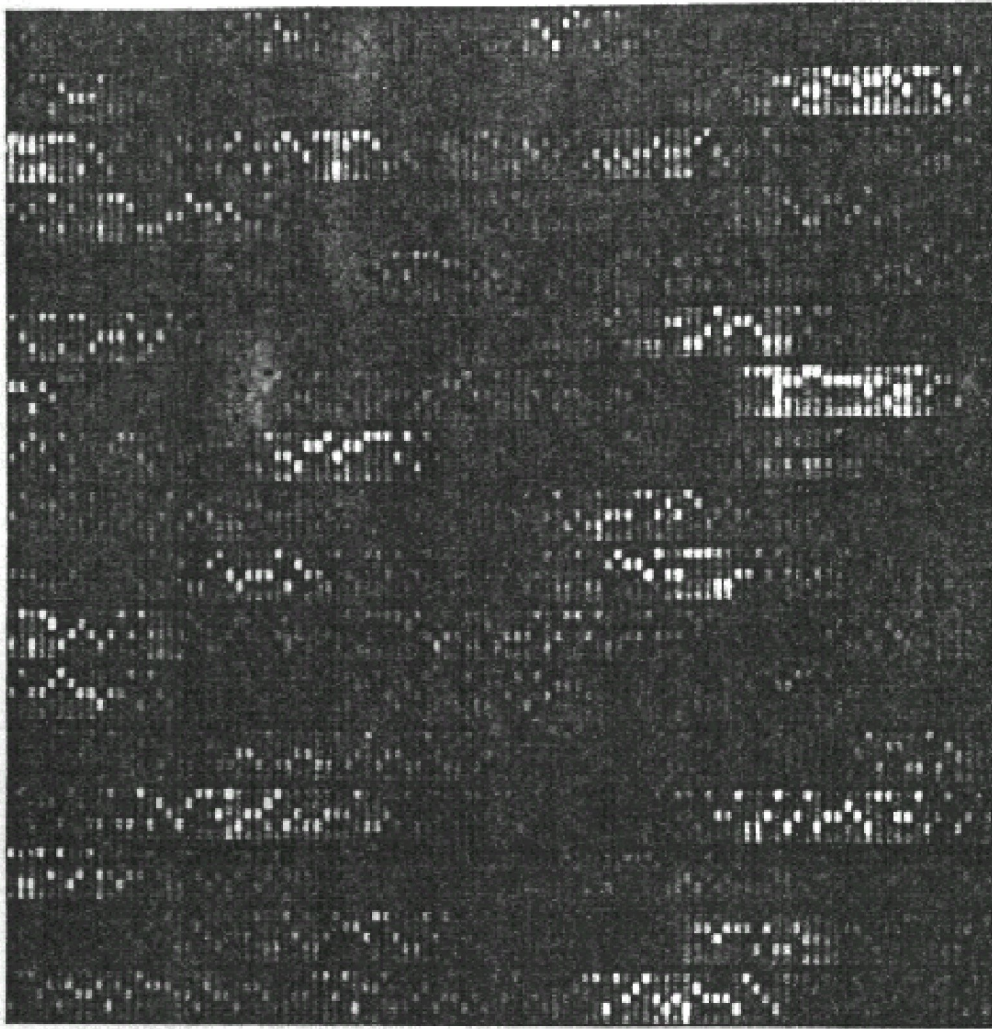
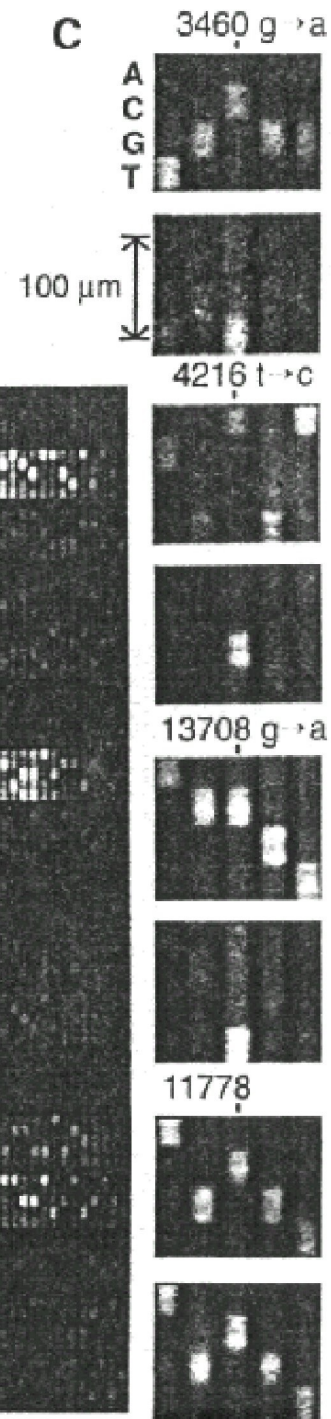


[McCaskill, Zhang]

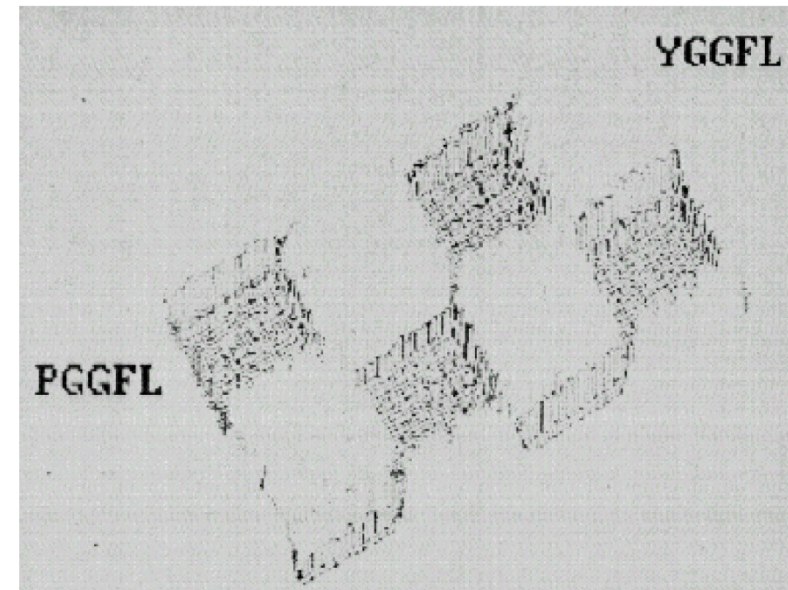
DNA komputer

# DNA Matryca

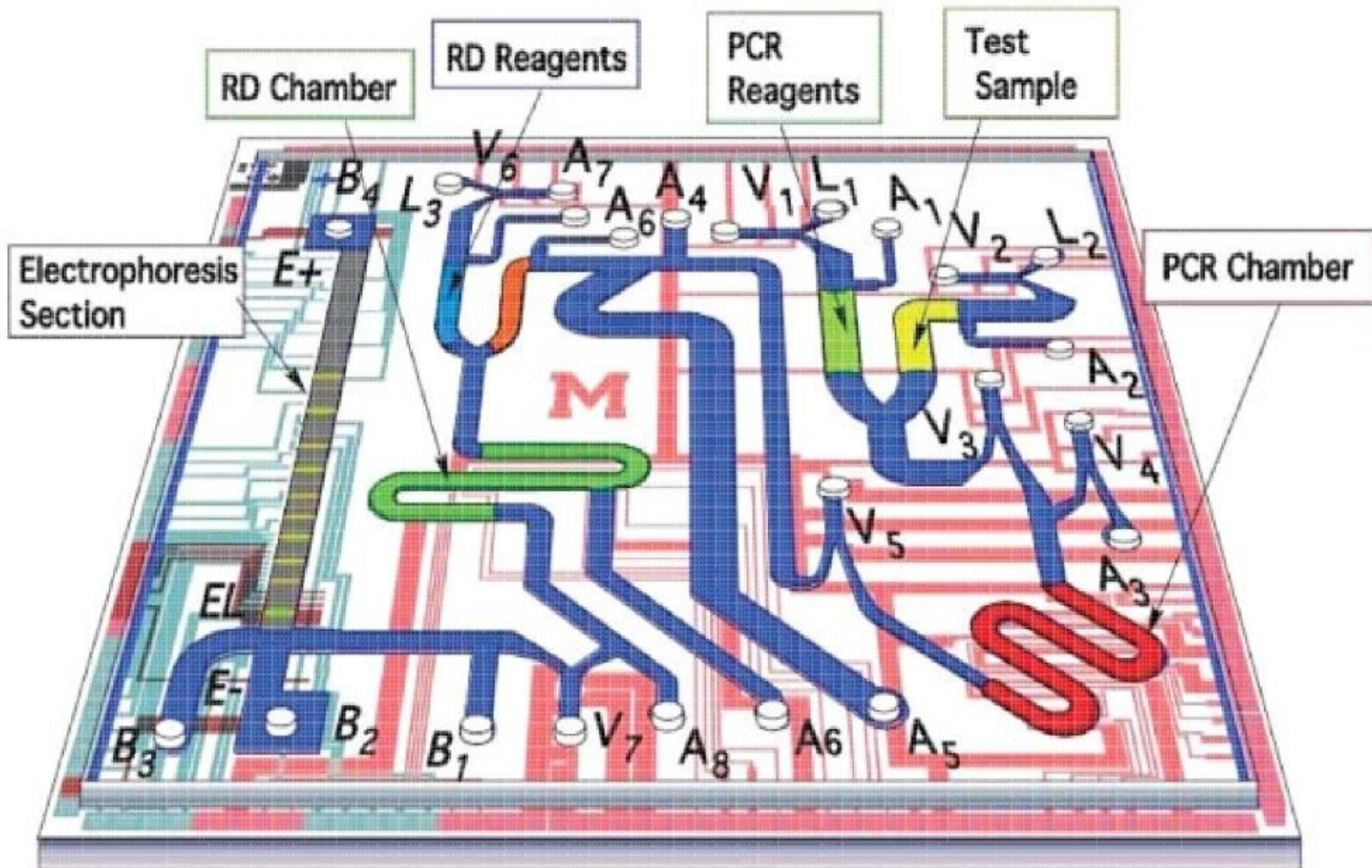


**A****B****C**

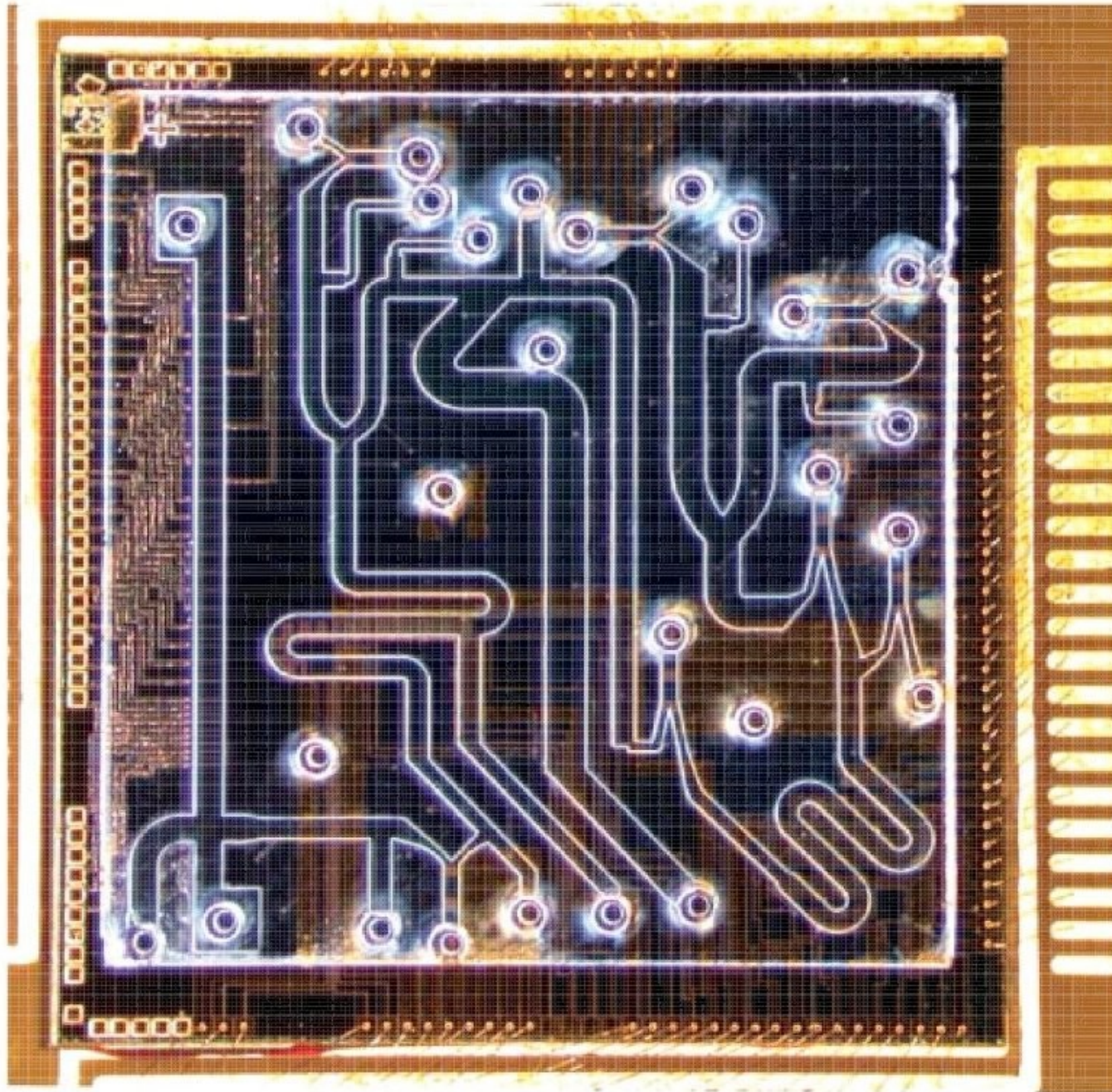
# DNA Chip

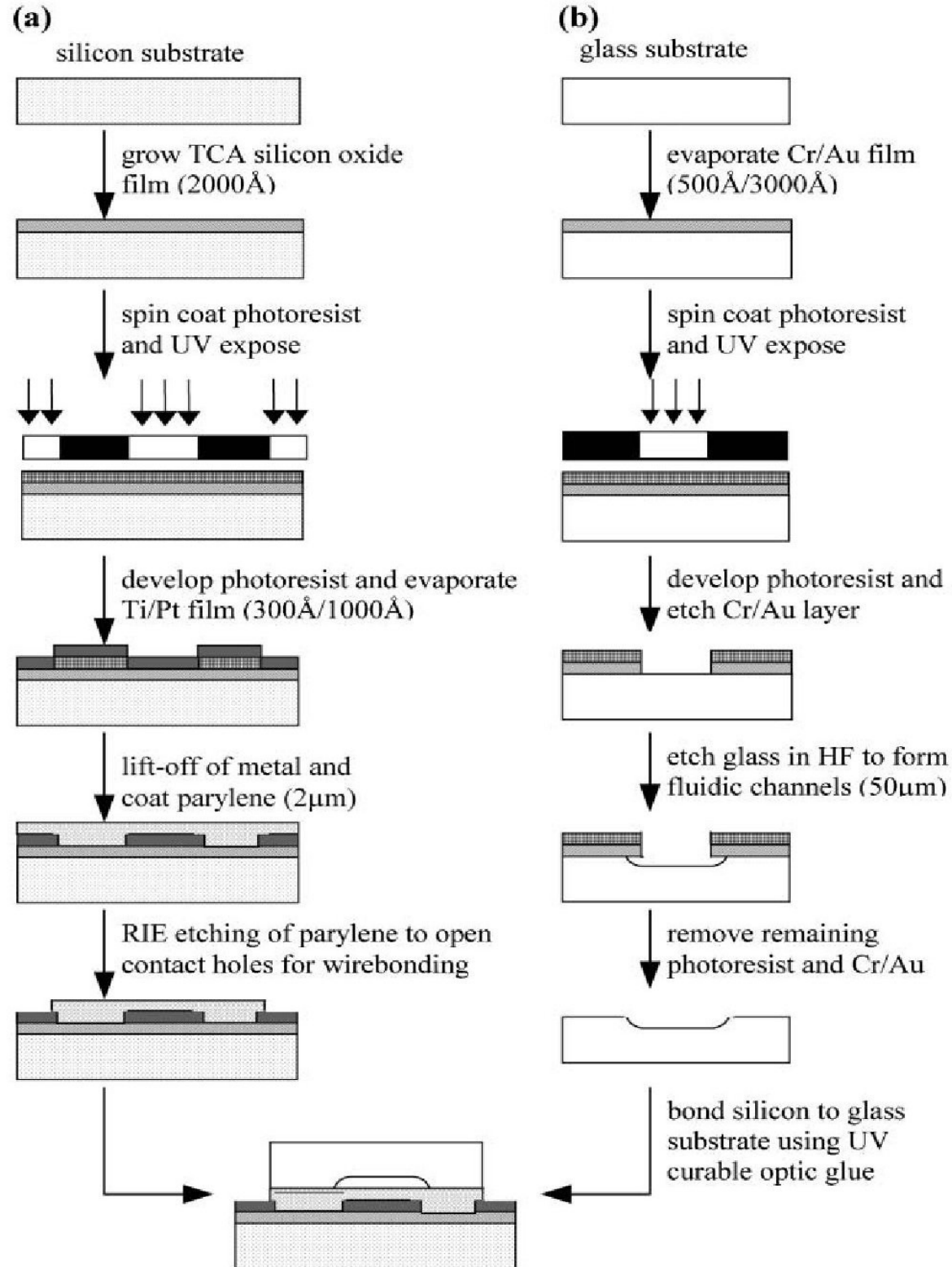


# Lab-on-a-Chip (LOC) – Pal, Burns et al, 2005



# Lab-on-a-Chip (LOC) – photograph of the assembled device







# Lab-on-a-Chip (LOC)

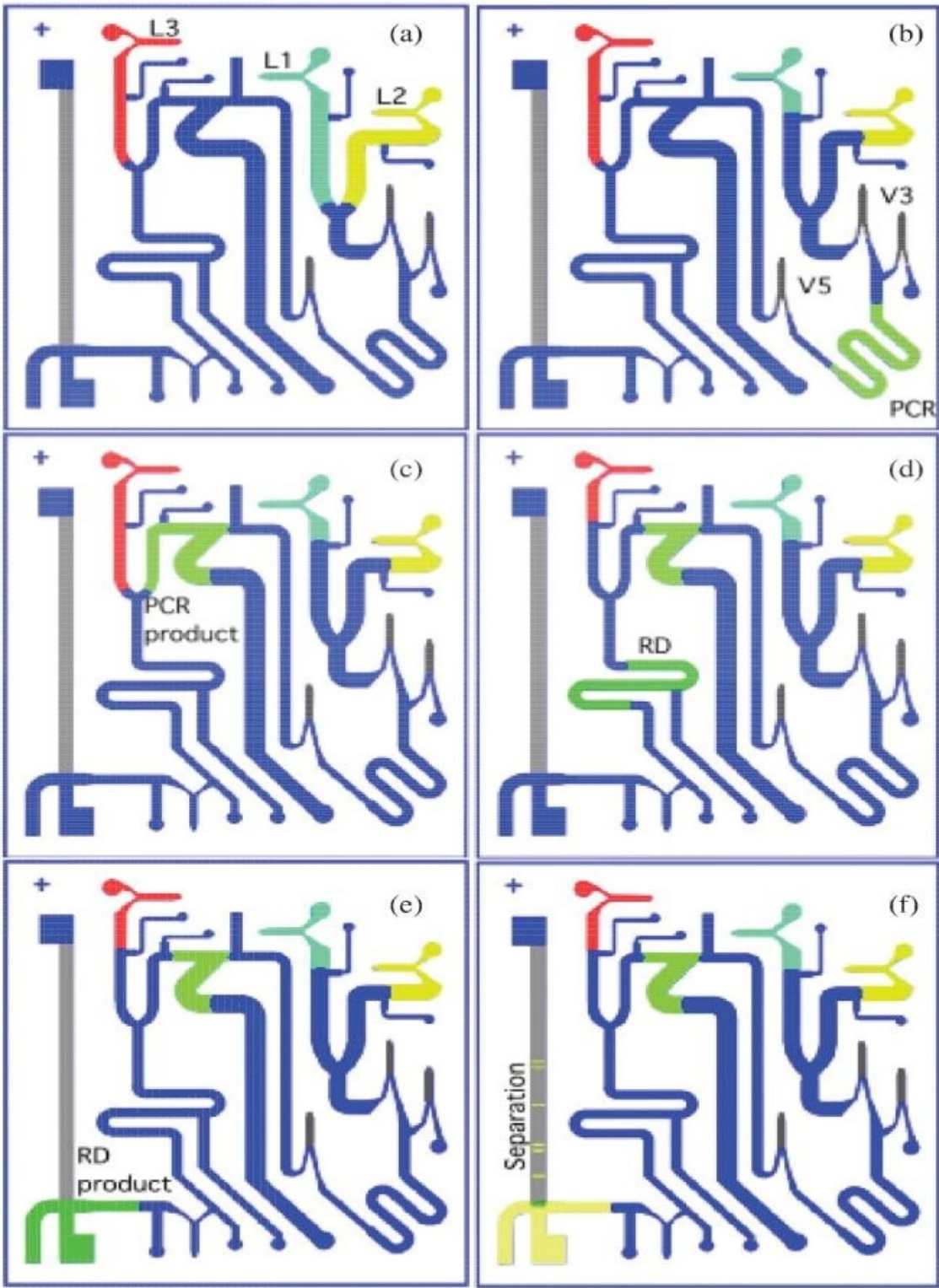
**Table 1** PCR primer sequences and product sizes

Assay	Forward primer
Influenza	5'-GTTTGTTTCTCT GGTACATTCCGC-3'
Human <i>DIS80</i>	5'-GAAACTGGCCTCCA AACACTCCCCGCCG-3'
Mouse <i>SNRPN</i>	5'-GACACCAAGAG GTGGTTAAAGC-3'

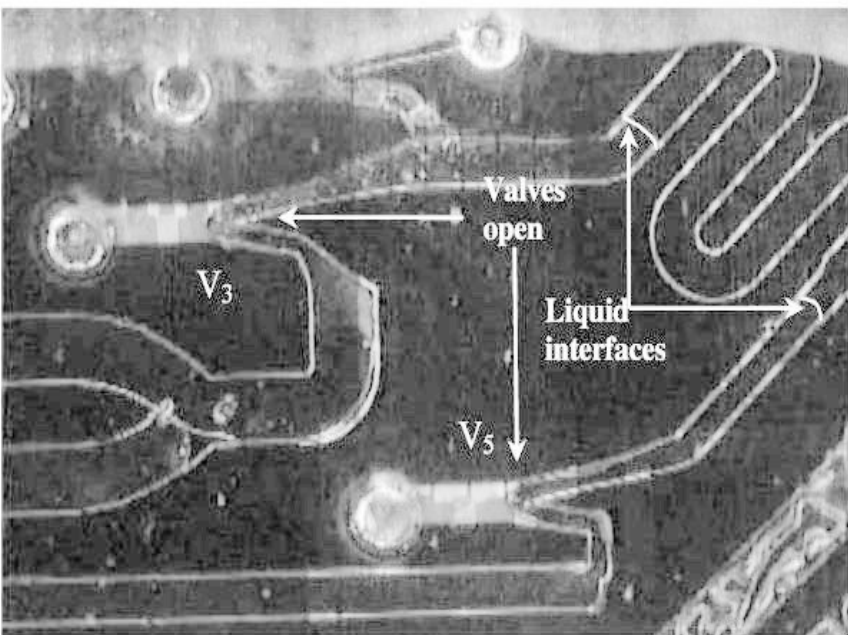
  

Reverse primer	Product
5'-CAACTGTTACCC TTATGATGTGCC-3'	690 bp
5'-GTCTTGTTGGAGAT GCACGTGCCCCCTTGC-3'	~650 bp
5'-AGCTTGCAGGT ACACAATTCA-3'	996 bp

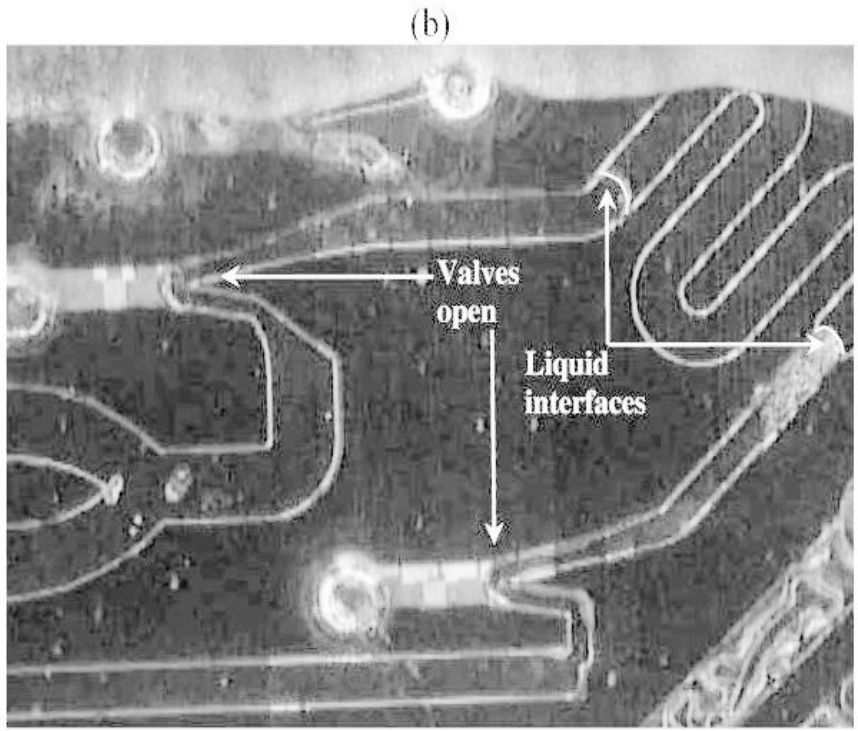
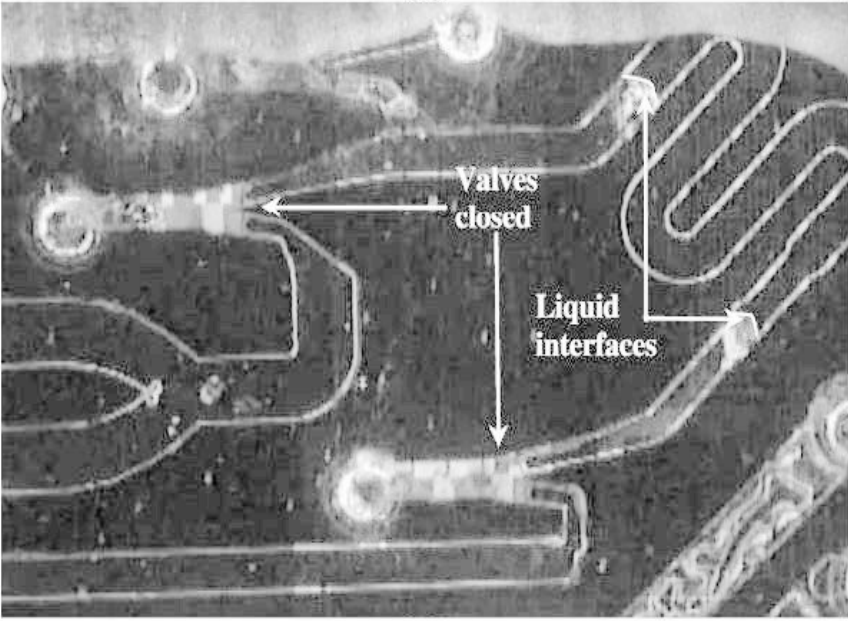
Lab-on-a-Chip (LOC)  
– fluidic operations of  
the device



# Lab-on-a-Chip (LOC) – valve integration with PCR chamber

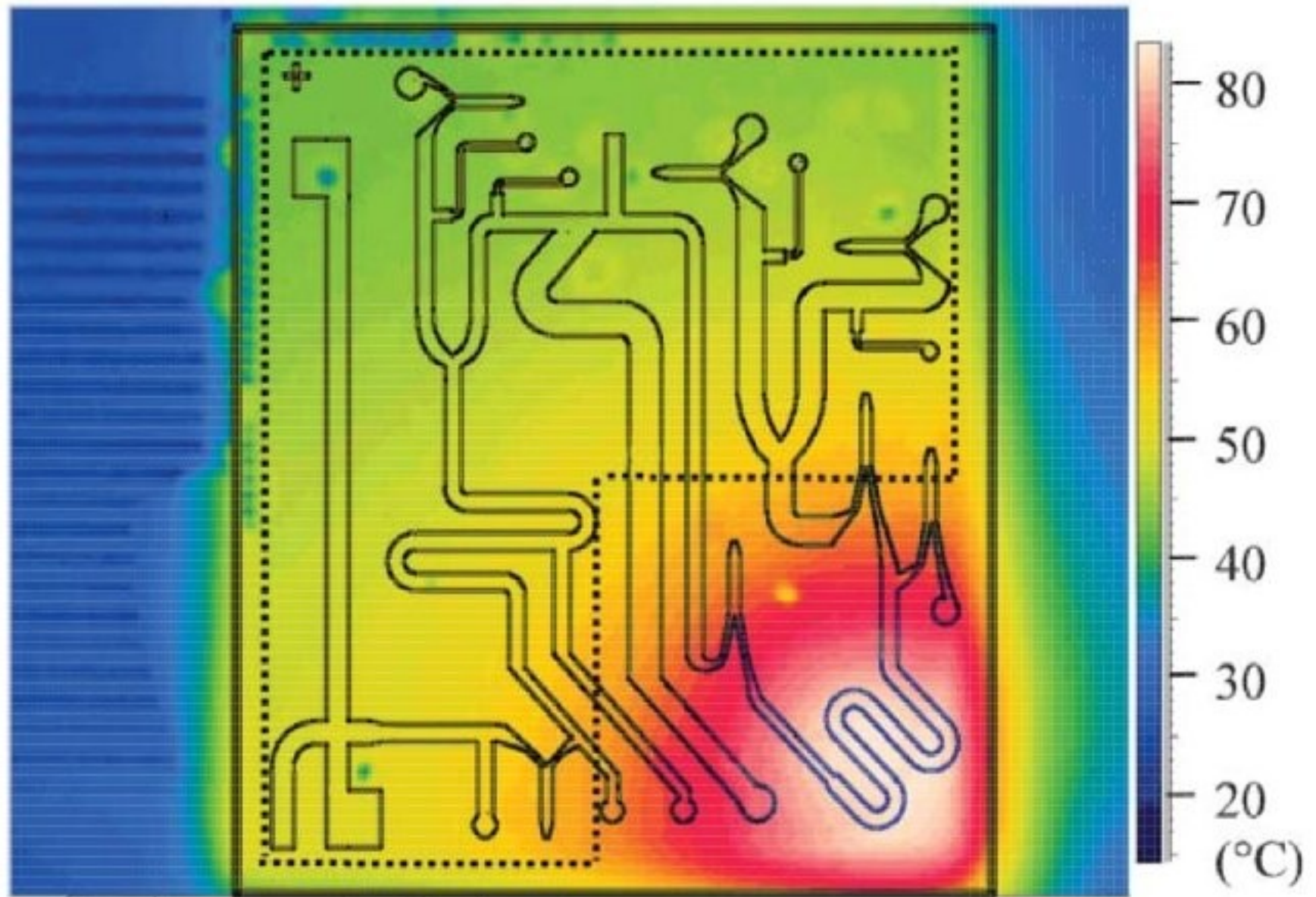


(a)



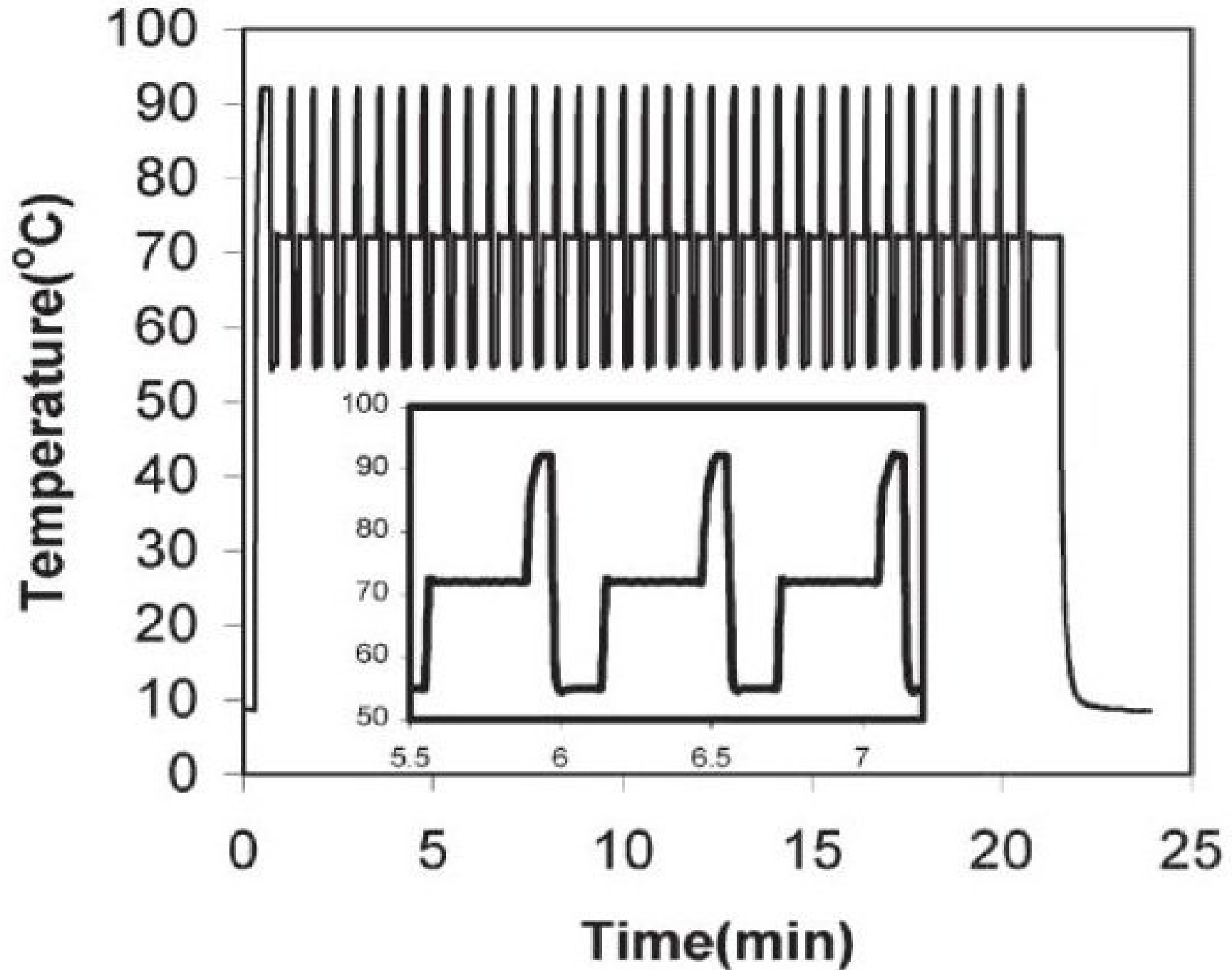
(c)

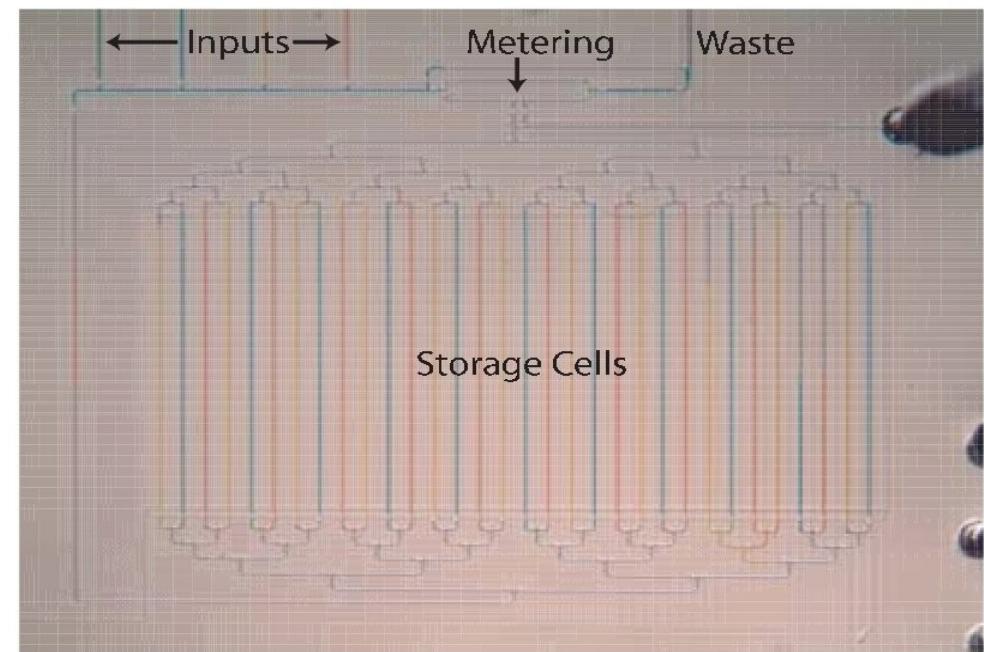
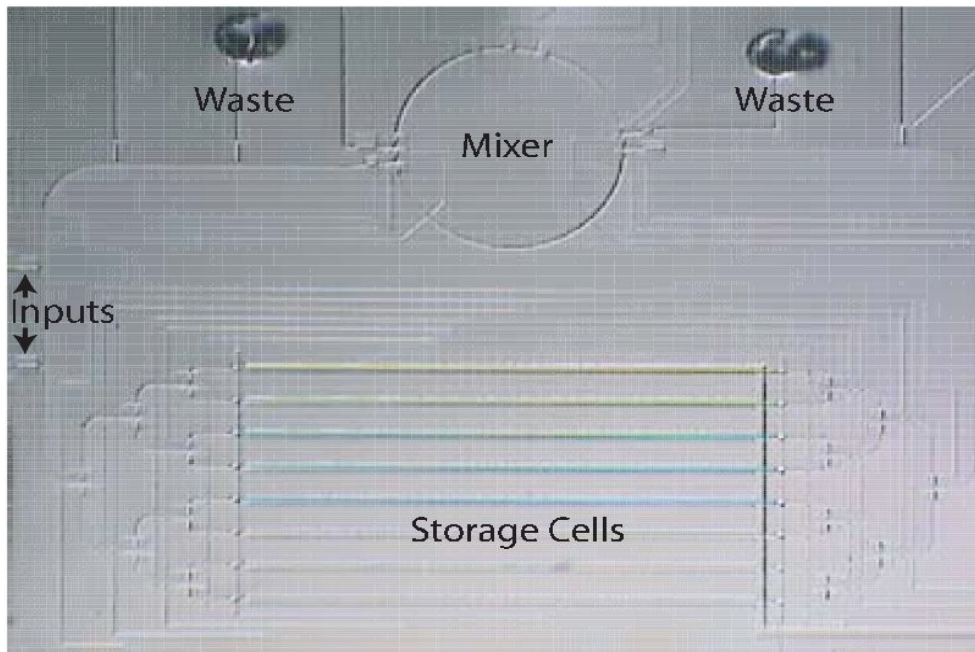
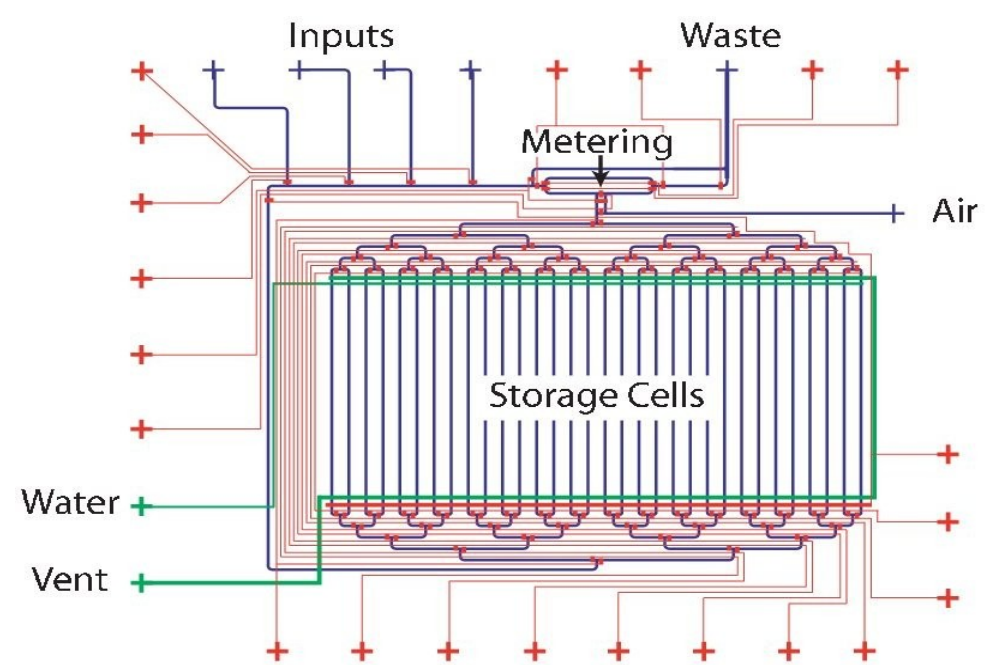
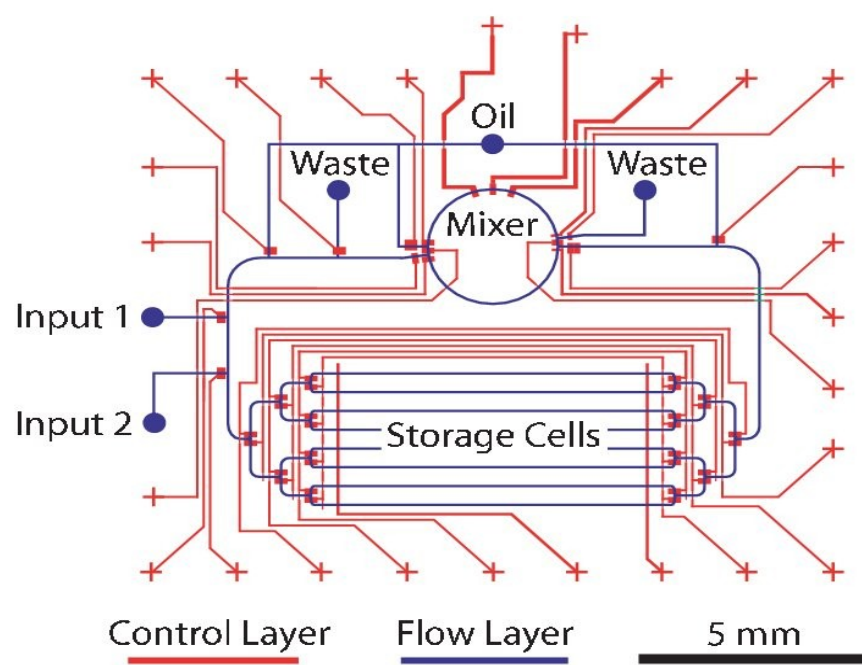
# Lab-on-a-Chip (LOC) – thermal control



(b)

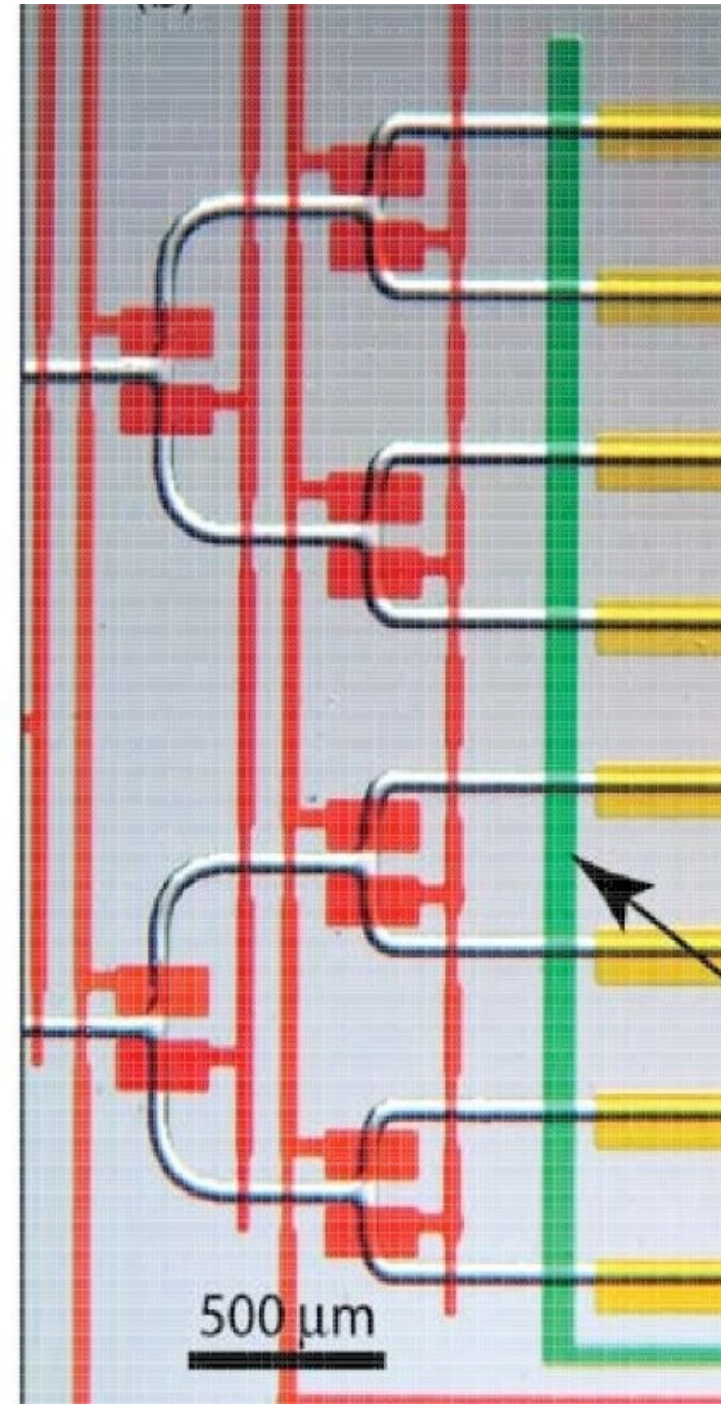
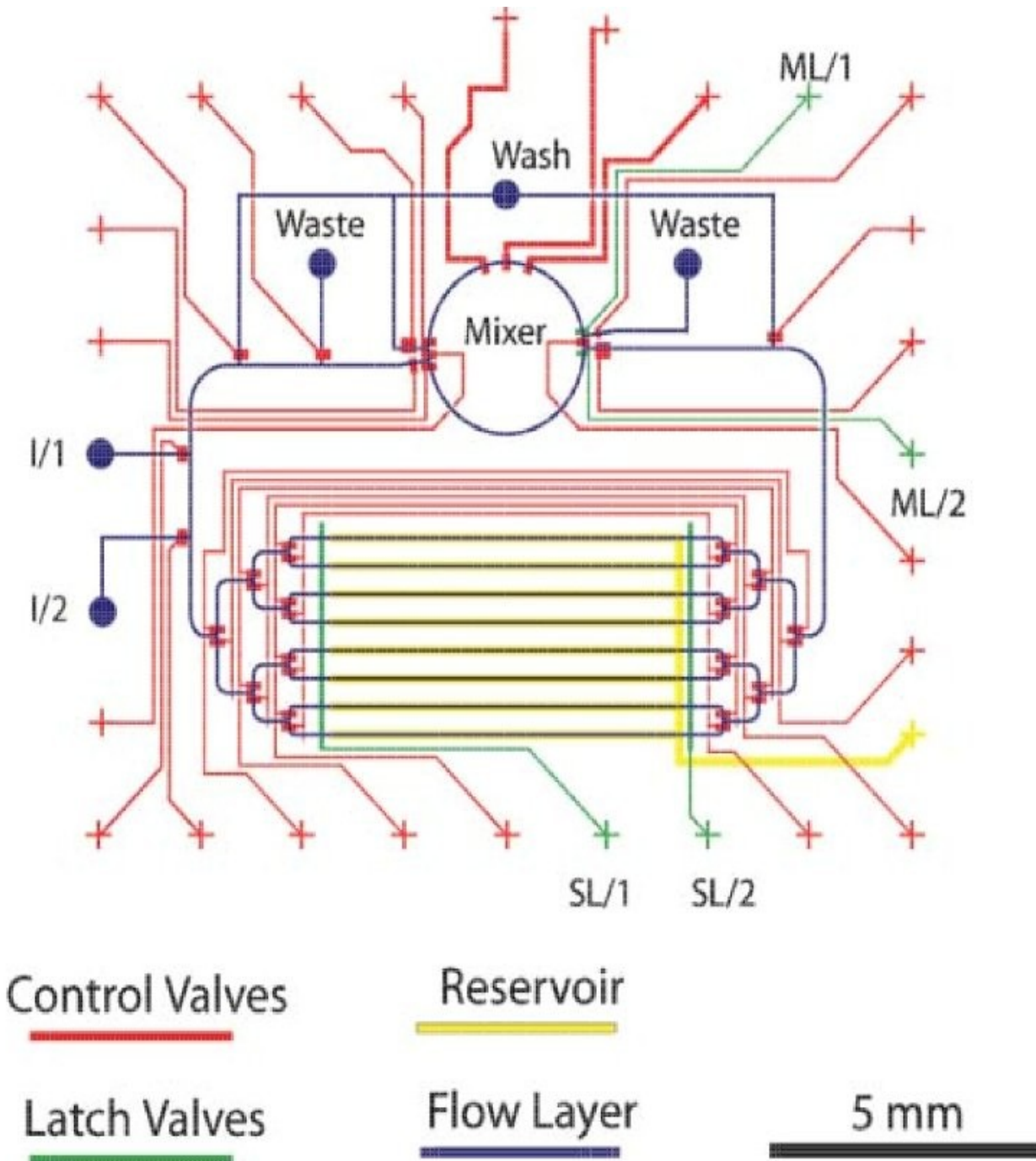
# Lab-on-a-Chip (LOC) – temperature profile for 35 PCR cycles





	Driving fluid	Wash fluid	Mixing	Sample size	Inputs	Storage cells	Valves	Control lines	Advantages
<b>Chip 1</b>	oil	N/A	rotary mixer	half of mixer	2	8	46	26	better sample isolation and retention
<b>Chip 2</b>	air	water	during transport	full mixer	4	32	140	21	faster and simpler chip operation

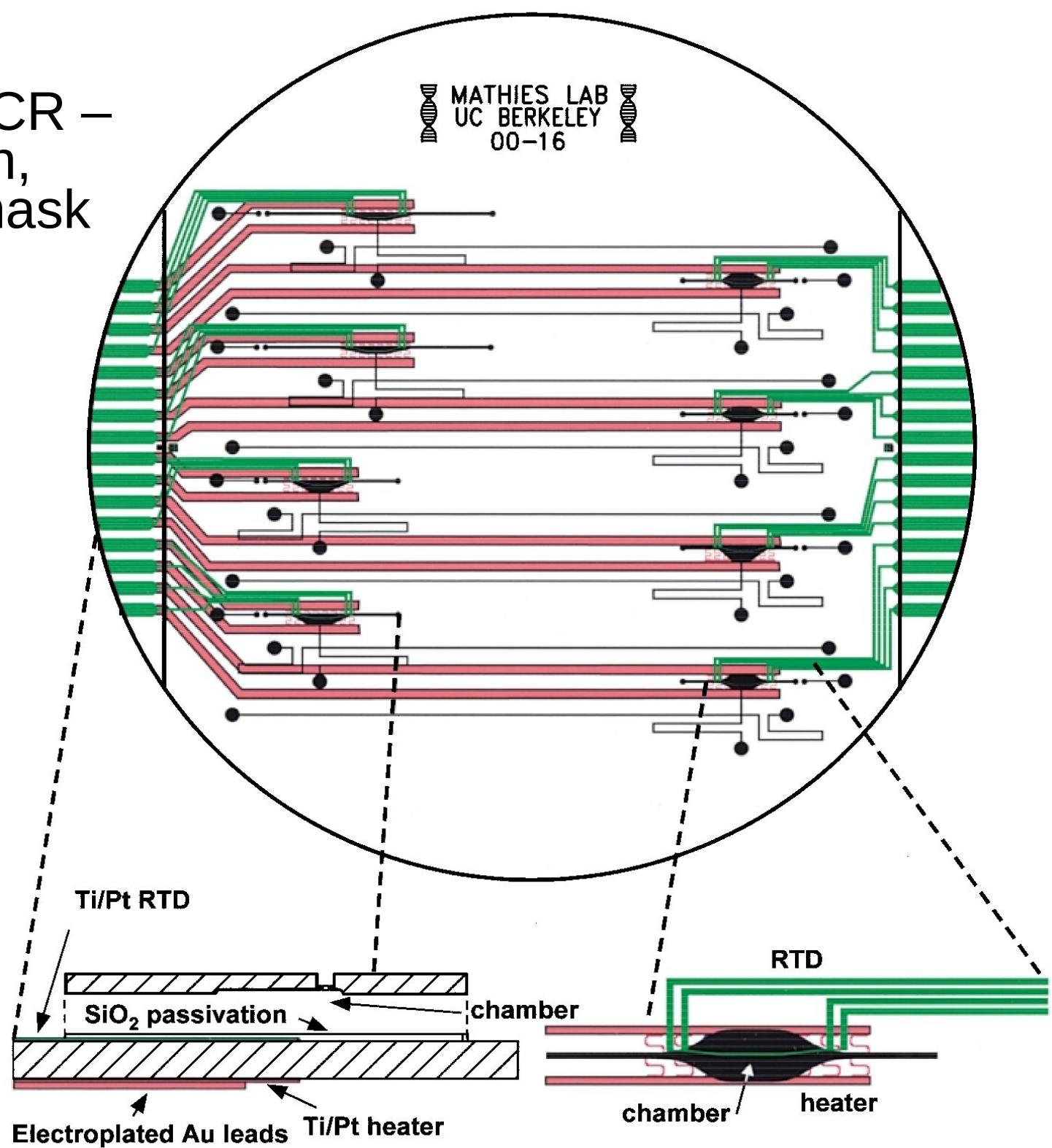
# Digital microfluidics – Urbanski, Thies, Thorsen 2006



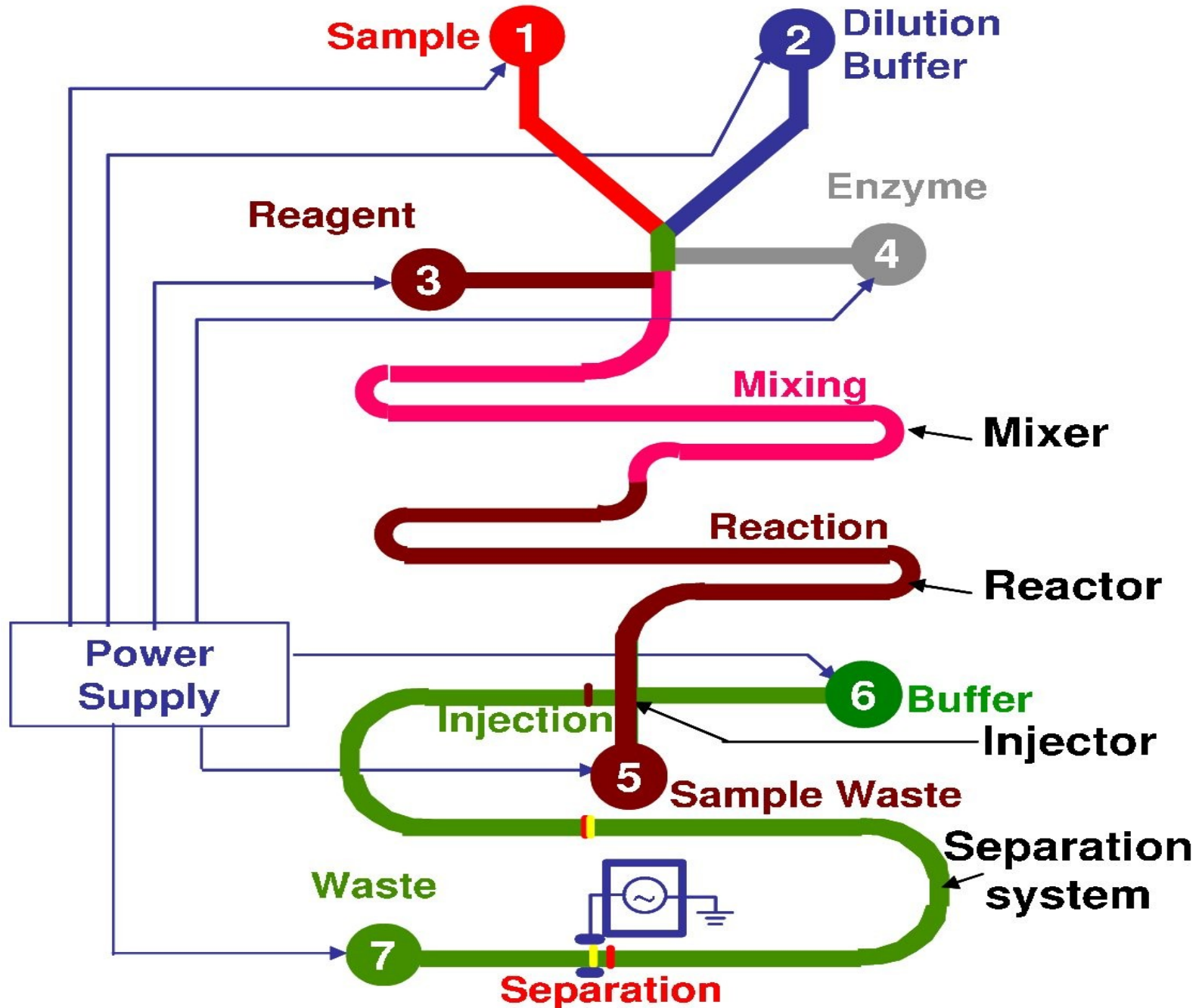




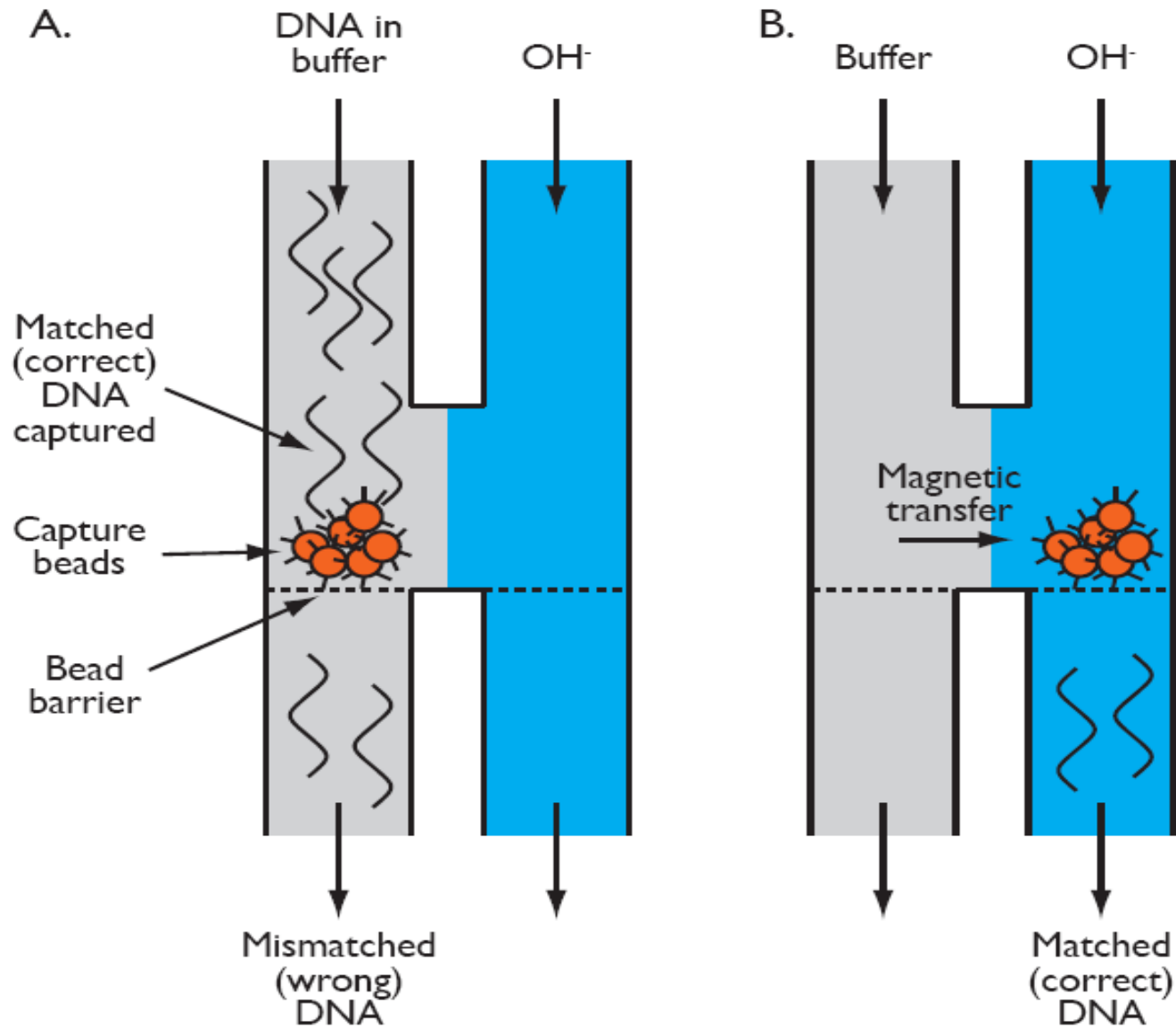
Fully integrated PCR –  
Lagally, Emrich,  
Mathies 2001 - mask  
design



# Molecular-System-on-a-Chip (MsoC)

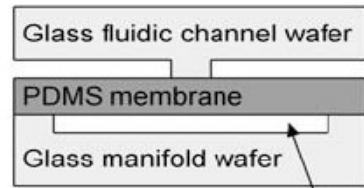


# Molecular-System-on-a-Chip (MsoC) - McCaskill

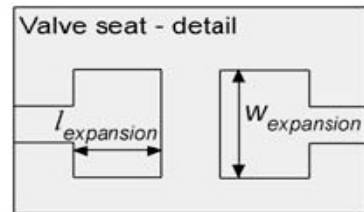
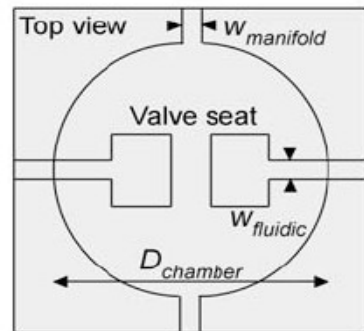
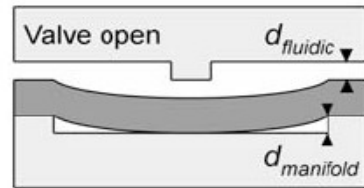


# Molecular-System-on-a-Chip (MsoC) - Grover

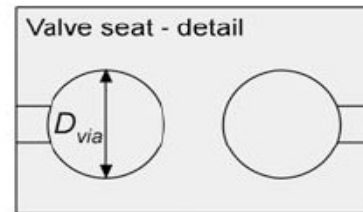
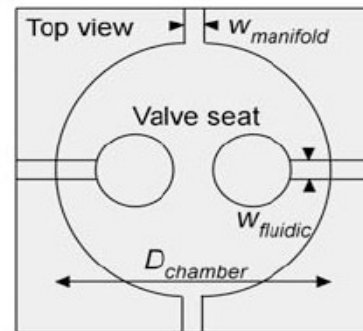
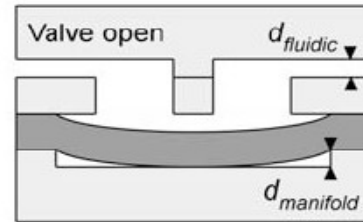
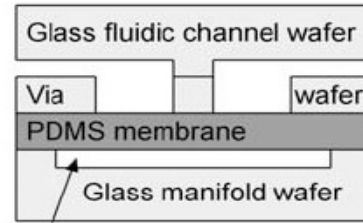
A) 3-layer valve



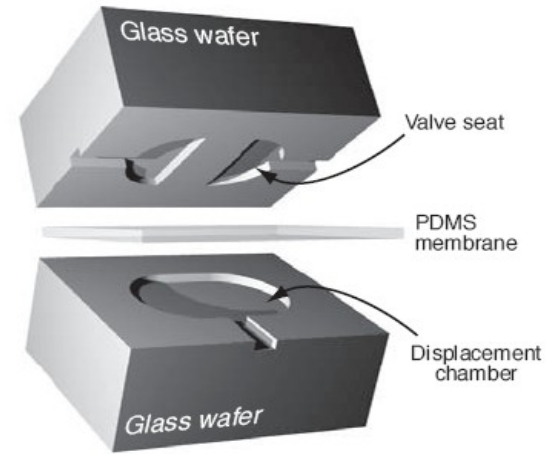
Displacement chamber



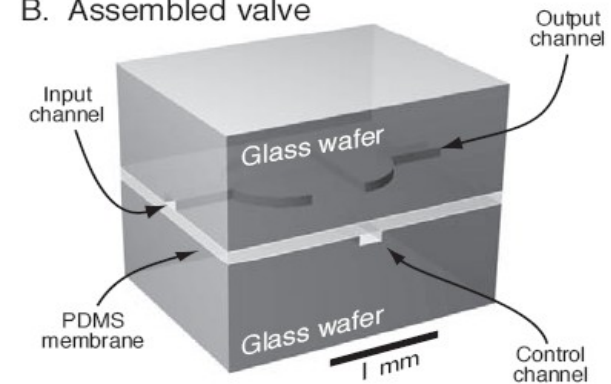
B) 4-layer valve



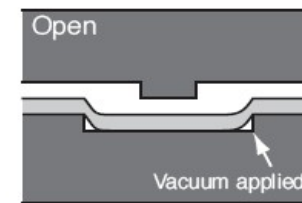
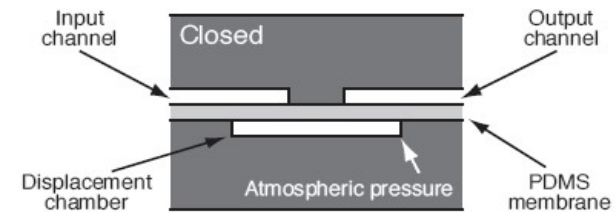
A. Exploded view of single valve



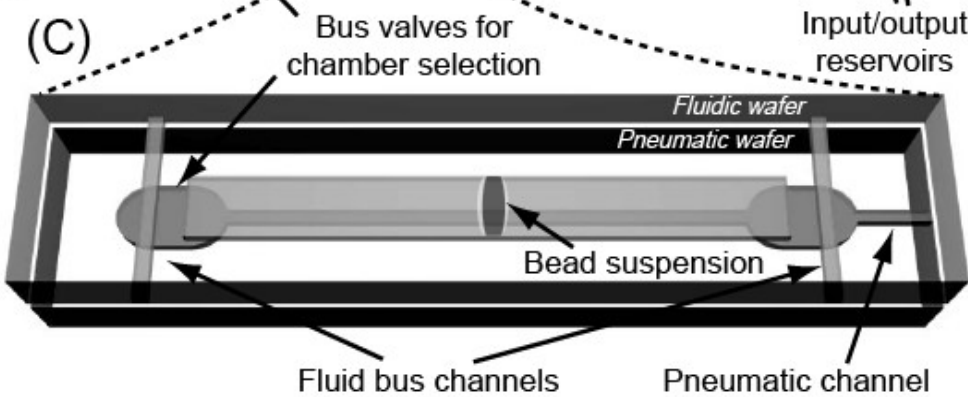
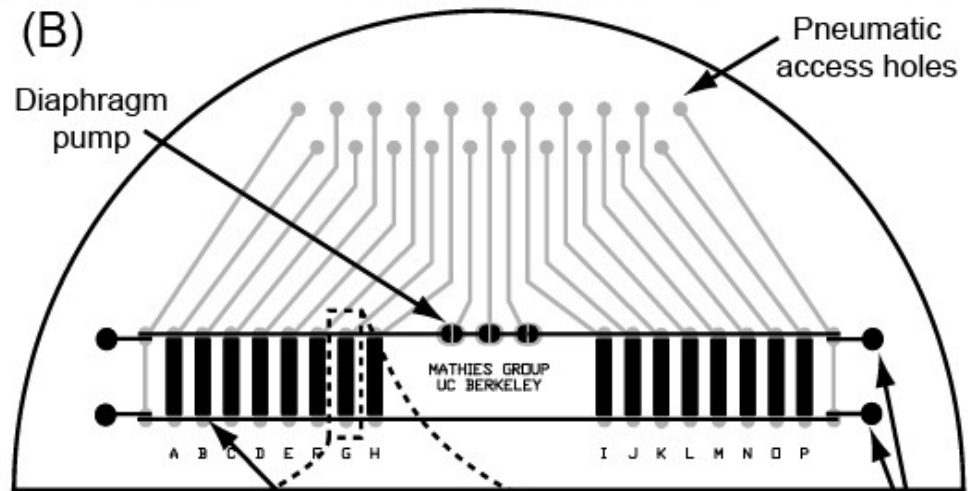
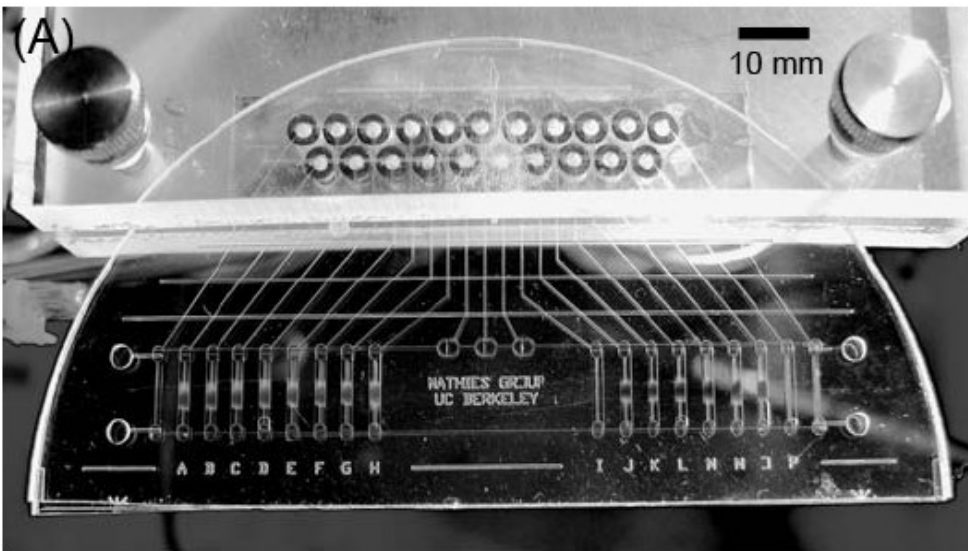
B. Assembled valve



C. Cross-section



# Molecular-System-on-a-Chip (MsoC) - Grover



(A) Load capture beads into chambers



(B) Load input DNA into fluidic loop and chamber



(C) Circulate input DNA through selected beads

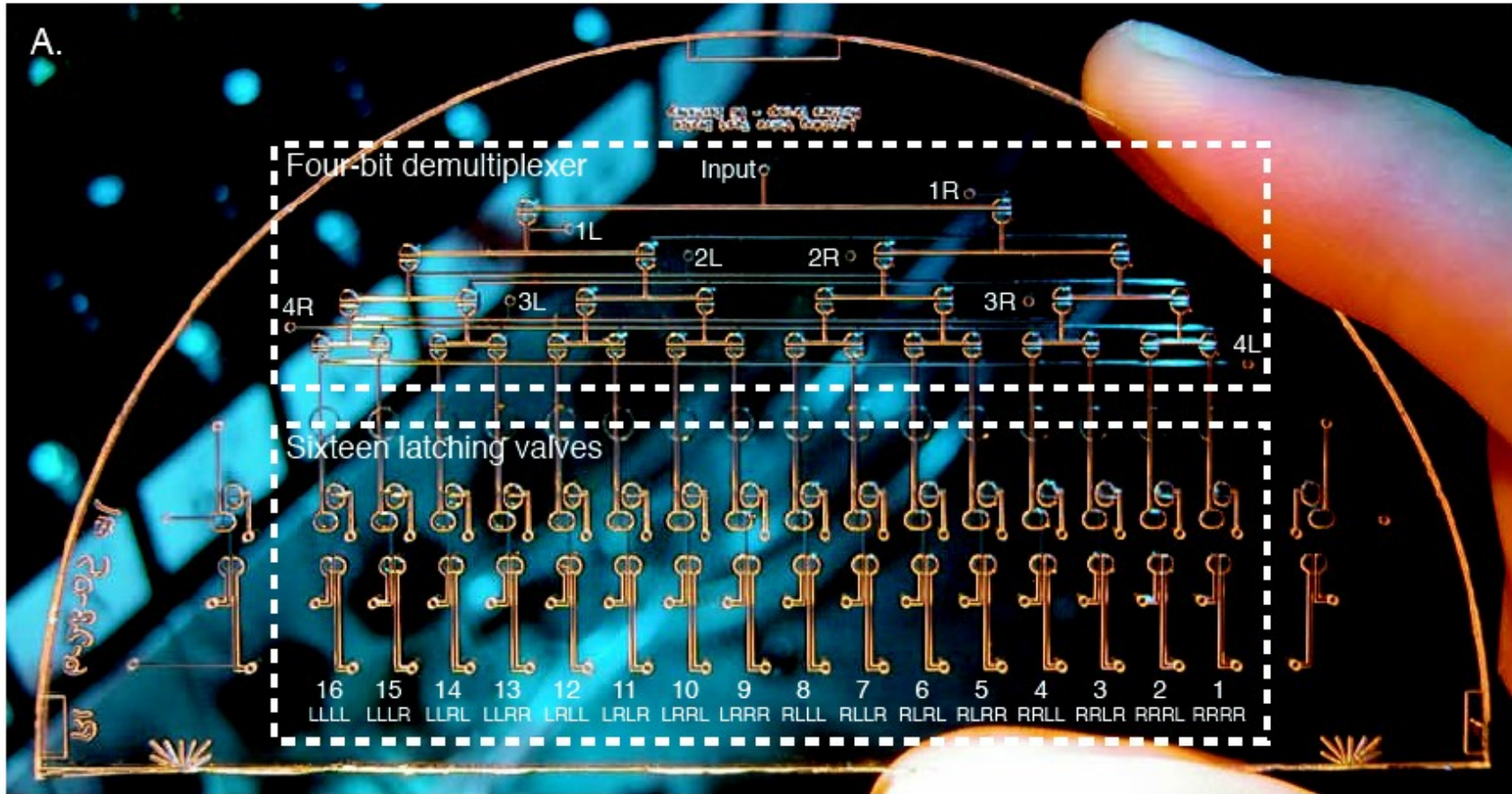


(D) Release and transfer DNA to next capture step

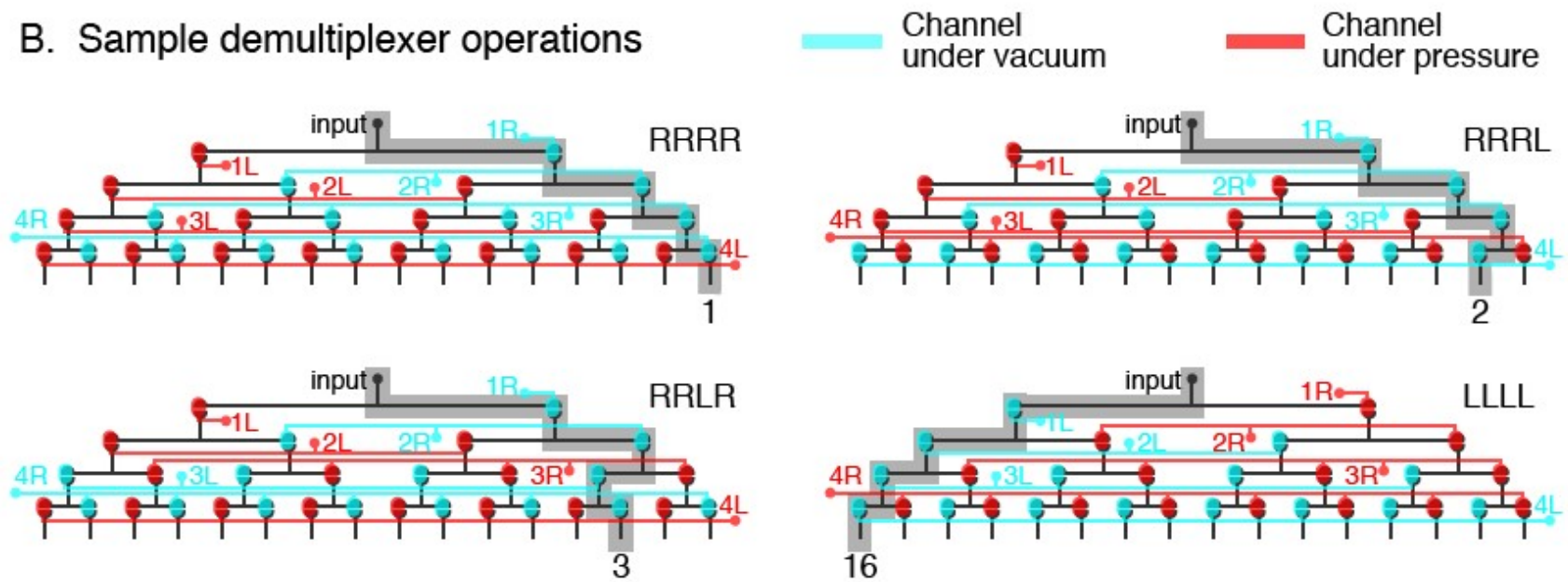


(E) Release and transfer DNA to first readout step



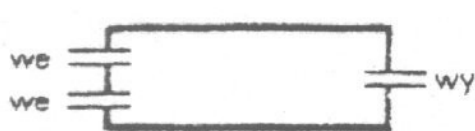
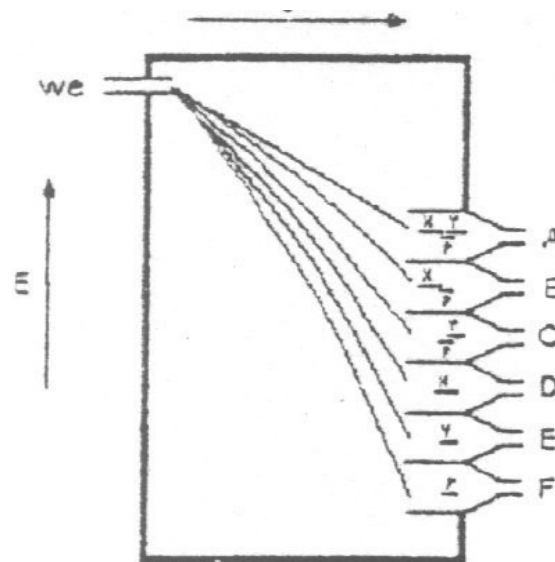
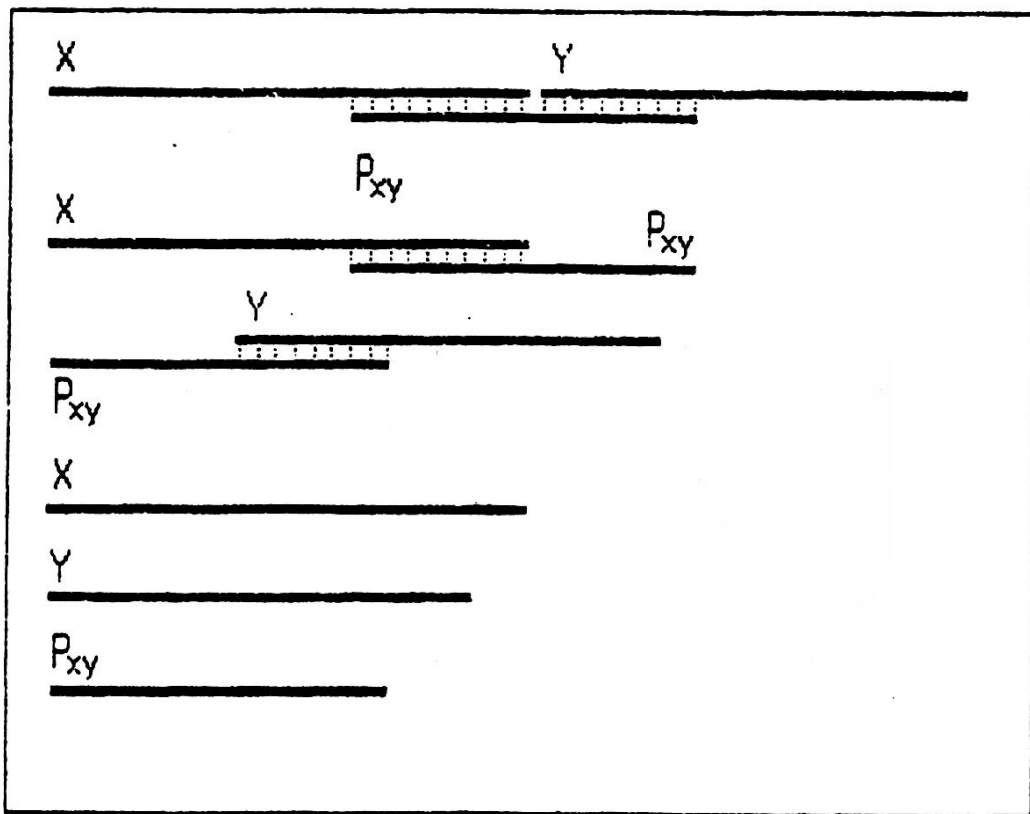


**B. Sample demultiplexer operations**



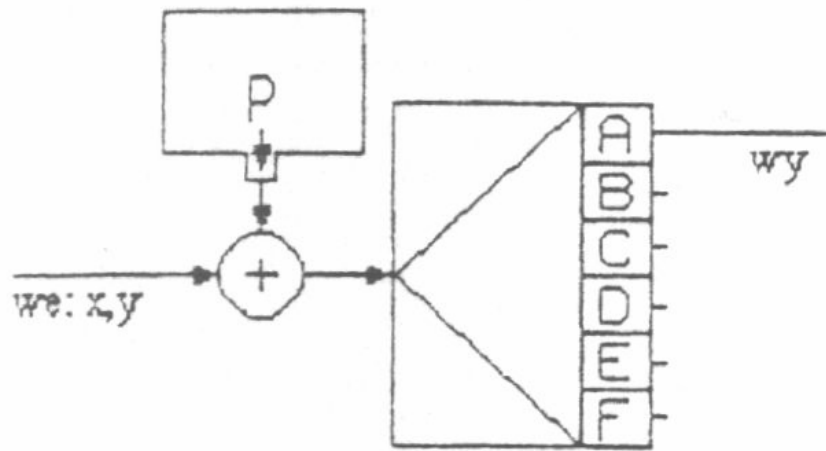
# Przykład 1

# Molecular-System-on-a-Chip – Nowak, Mulawka 2000

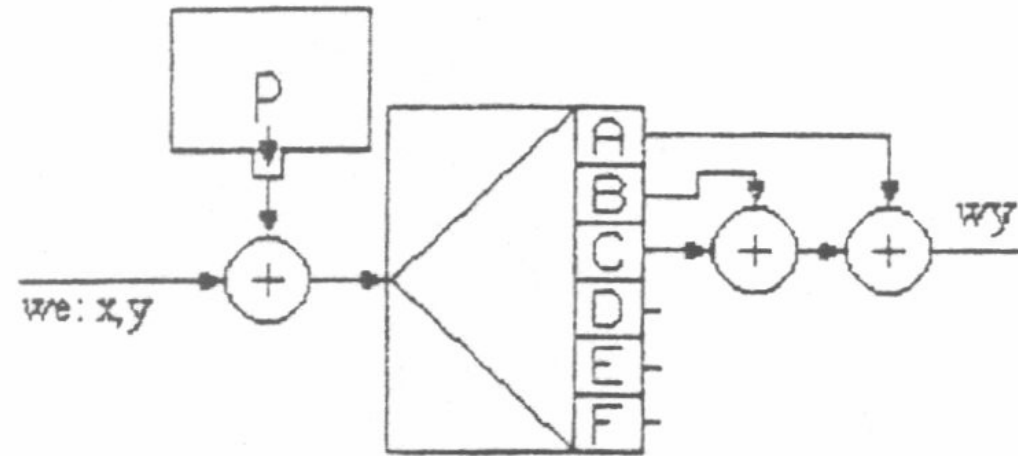




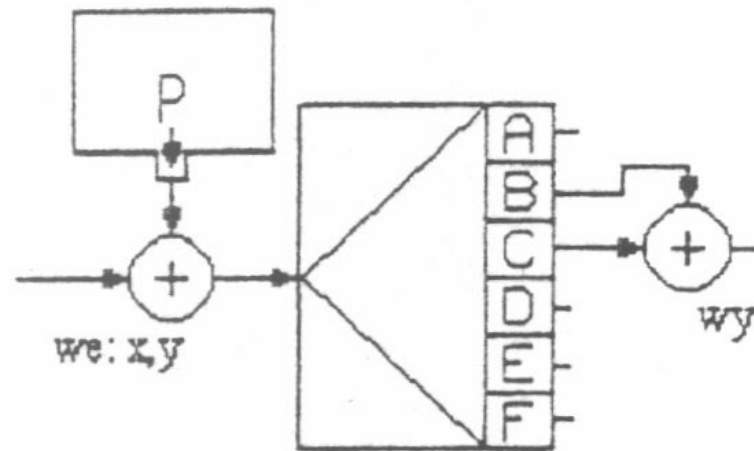
# Possible chains of DNA after purification



Realizacja funkcji AND



Implementacja funkcji OR



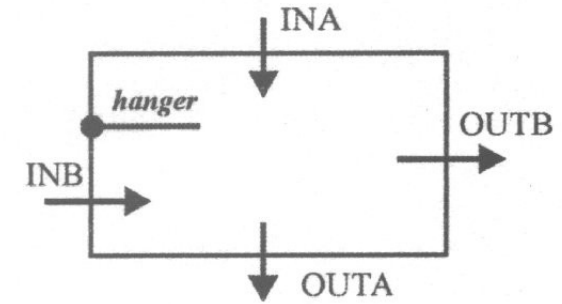
Implementacja funkcji XOR

# Przykład 2

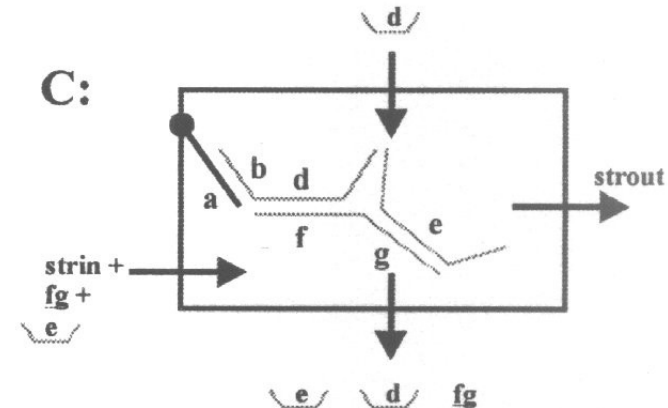
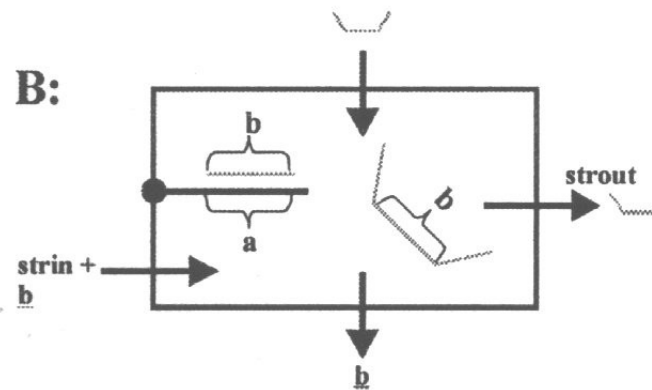
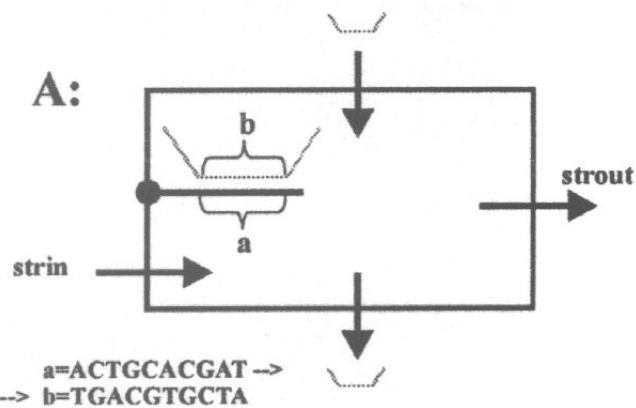
# Molecular-System-on-a-Chip (MsoC) – Tomczuk, Mulawka

	x	y	z	p
1	X   W   $\bar{X}$	Y   W   $\bar{Y}$	Z   W   $\bar{Z}$	P   W   $\bar{P}$
0	C   $\bar{W}$   $\bar{C}$	D   $\bar{W}$   $\bar{D}$	B   $\bar{W}$   $\bar{B}$	E   $\bar{W}$   $\bar{E}$

Assumed coding of logic signals by DNA strands

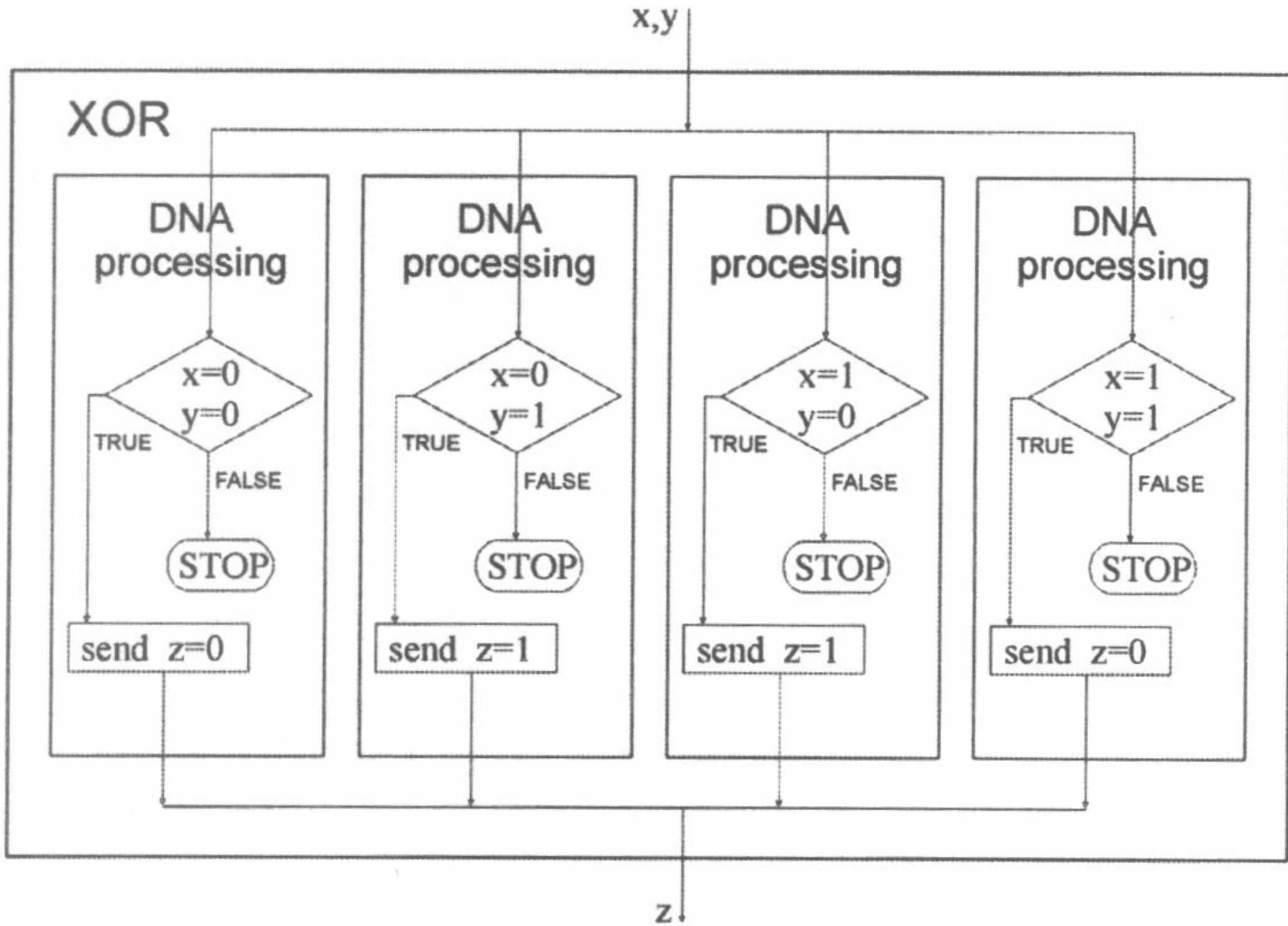


Structure of the molecular flow-cell

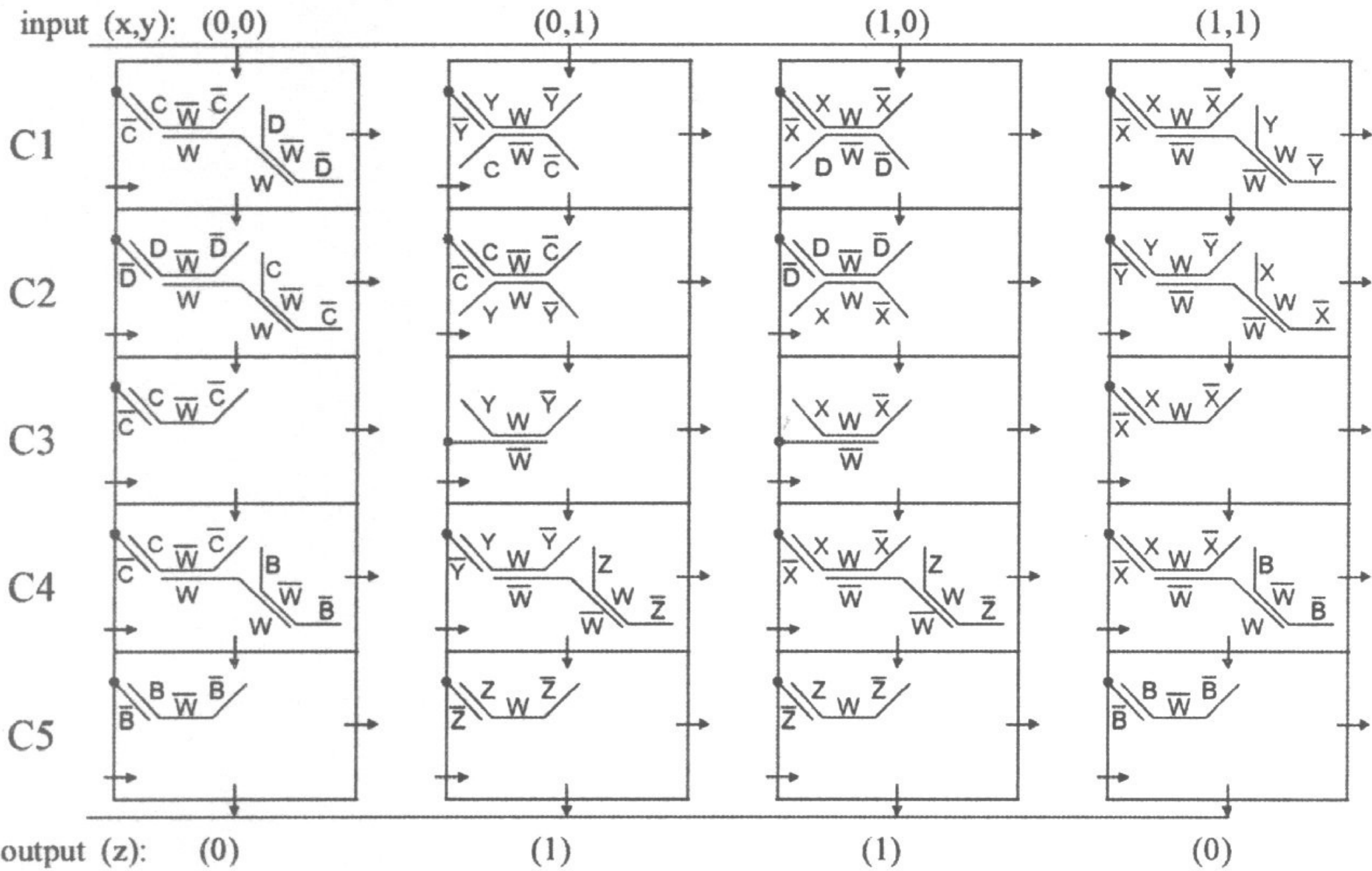


Dispatching of DNA strands using a molecular flow-cell

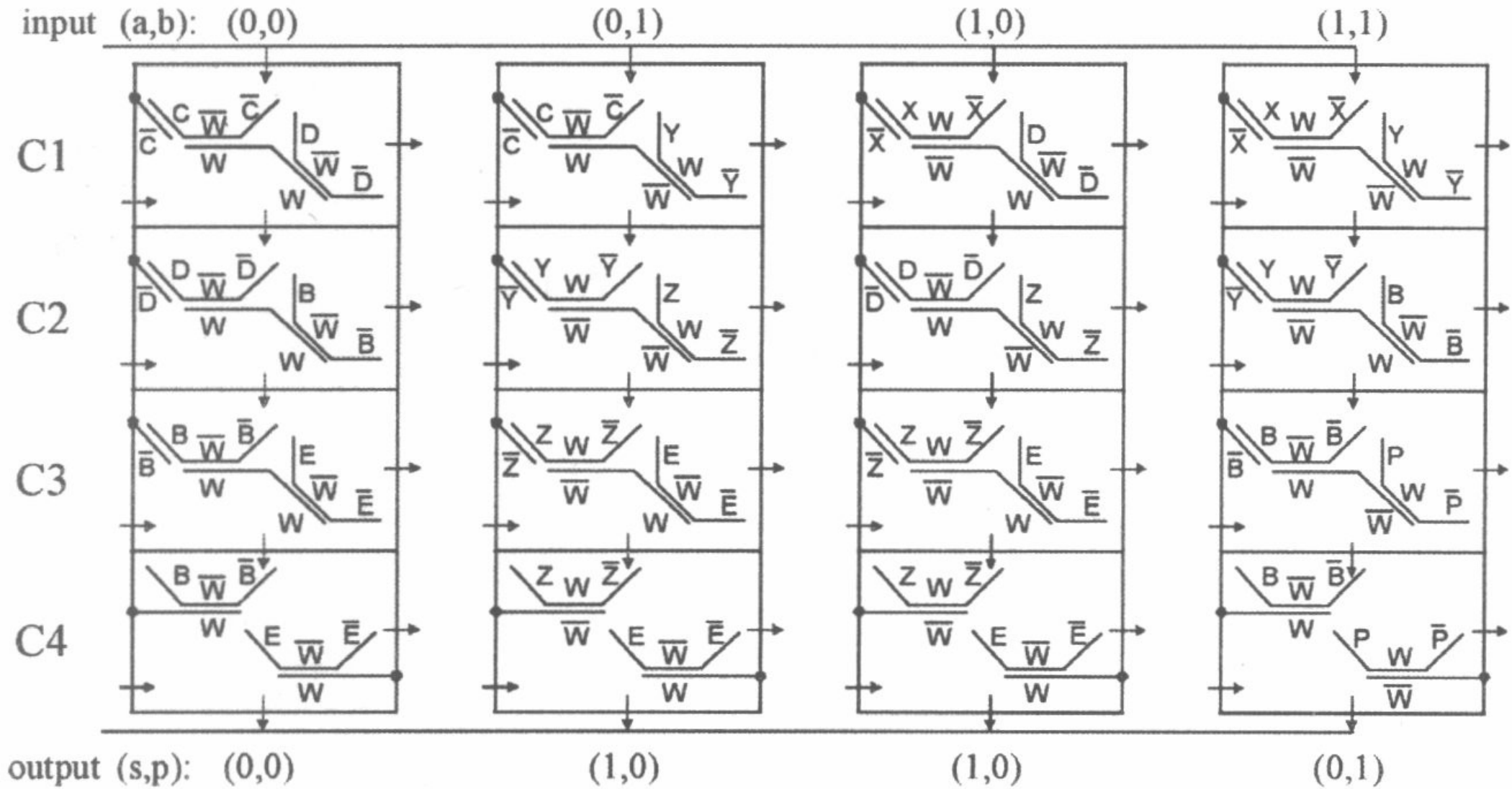
# Functionality diagram of XOR logic



# XOR gate implementation with four independent channels

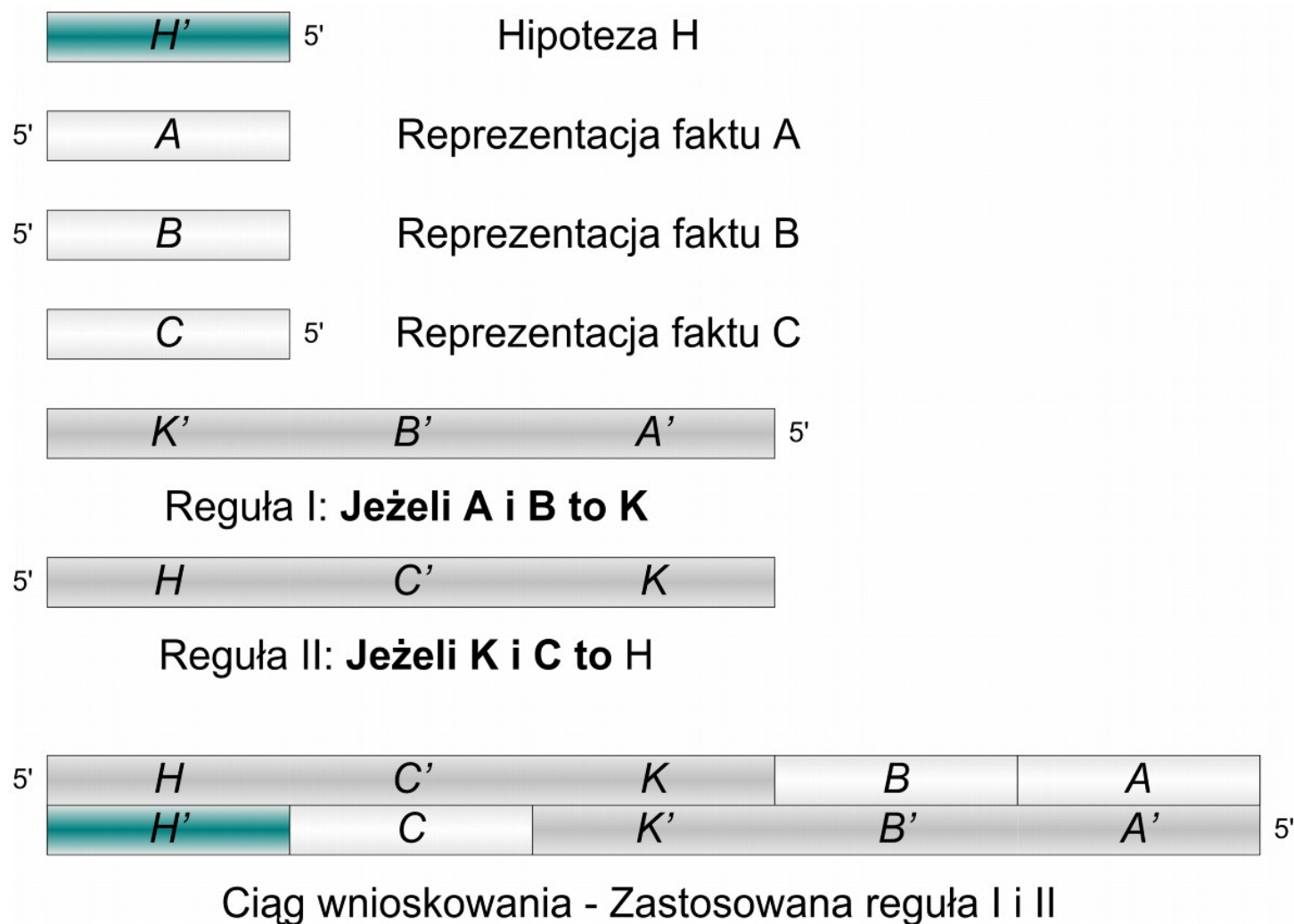


# Adder flow-cell implementation



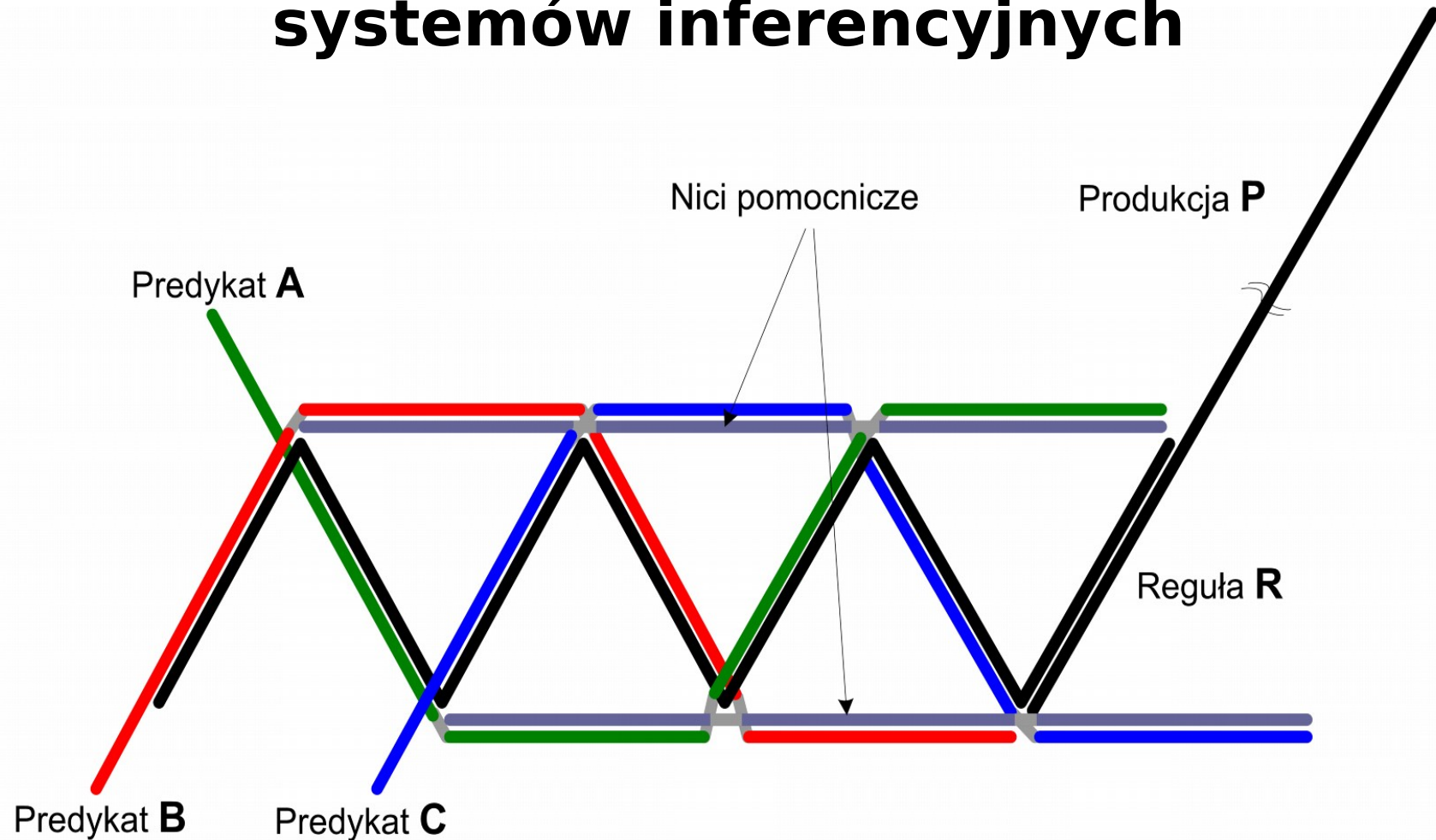
# Przykład 3

# Koncepcja Mulawki systemów inferencyjnych



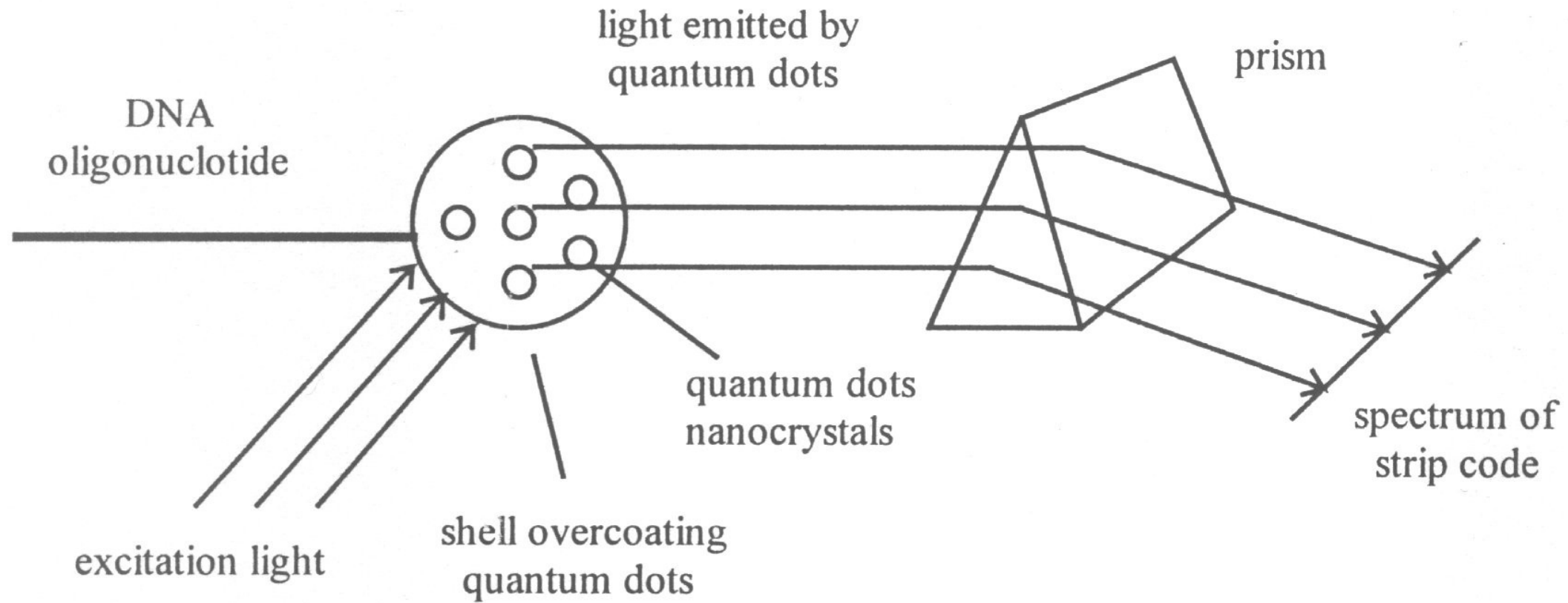


# Koncepcja systemów inferencyjnych

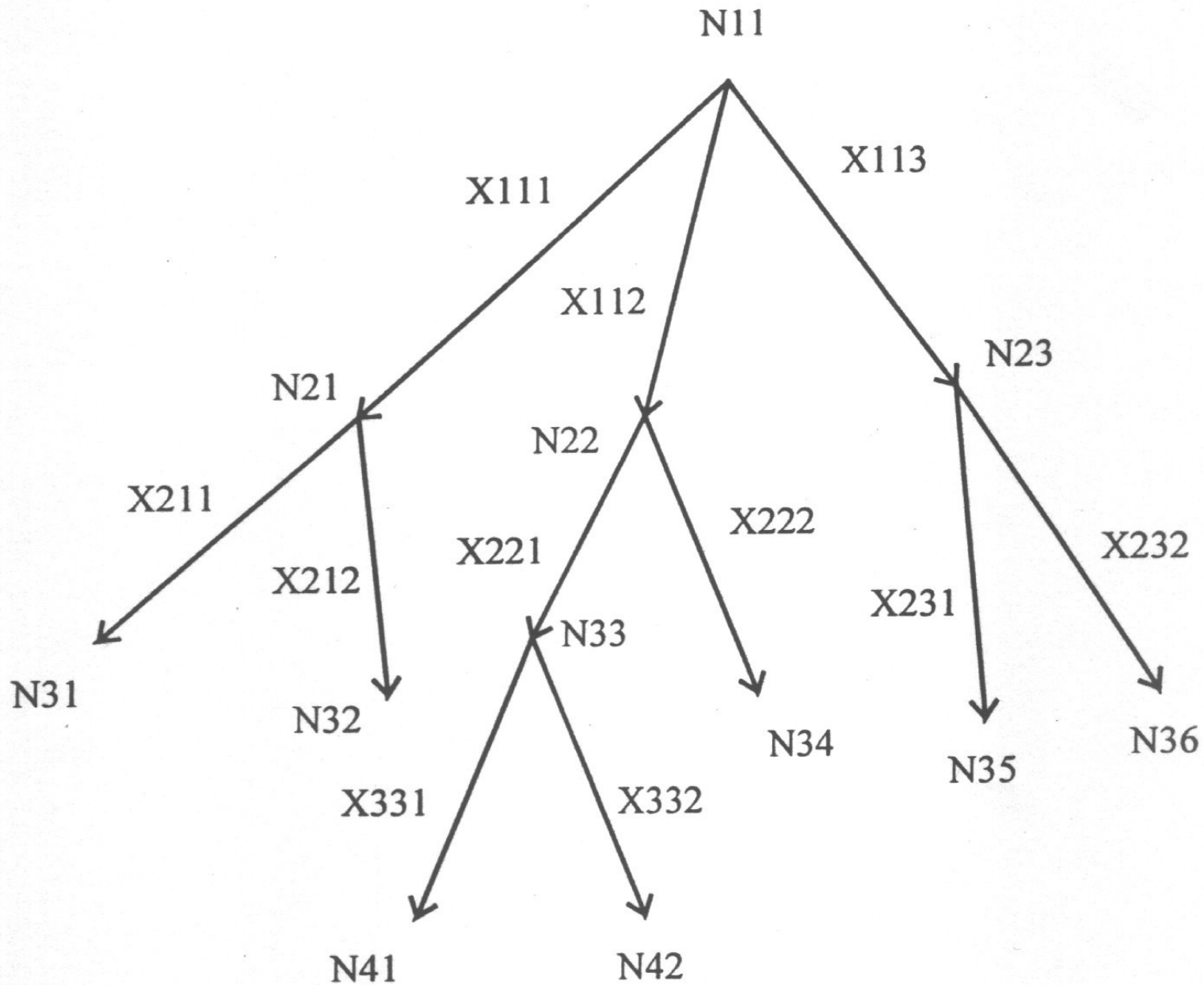


# Przykład 4

# DNA Decision Trees – Mulawka 1997-2007



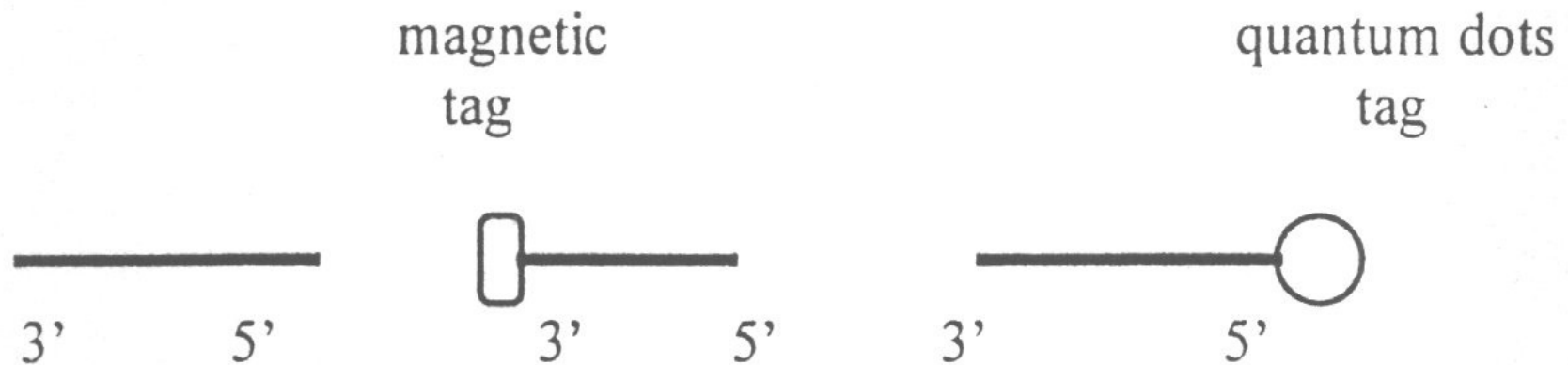
# A graph representing decision tree



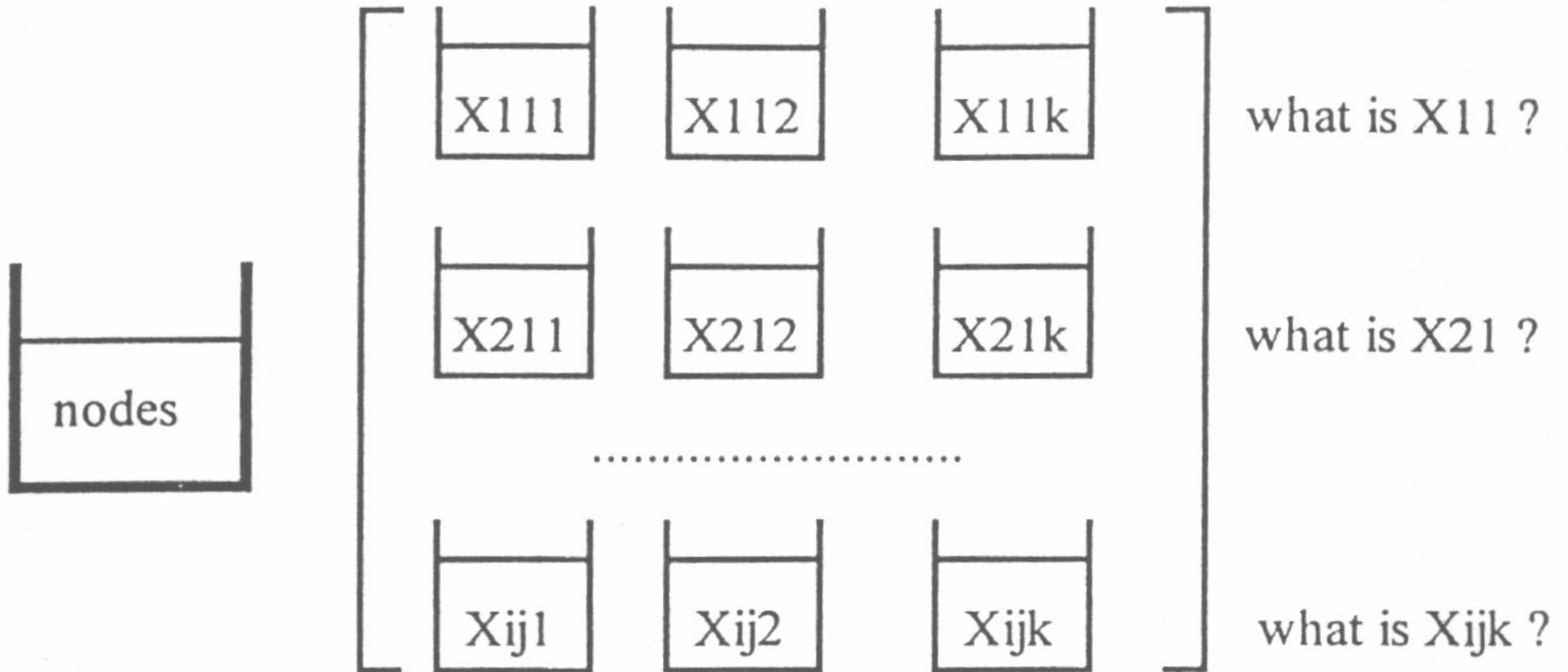
## 7 rules

(N11, X111) AND (N21, X211) ---> N31  
(N11, X111) AND (N21, X212) ---> N32  
(N11, X112) AND (N22, X221) AND (N33, X331) ---> N41  
(N11, X112) AND (N22, X221) AND (N33, X332) ---> N42  
(N11, X112) AND (N22, X222) ---> N34  
(N11, X113) AND (N23, X231) ---> N35  
(N11, X113) AND (N23, X232) ---> N36

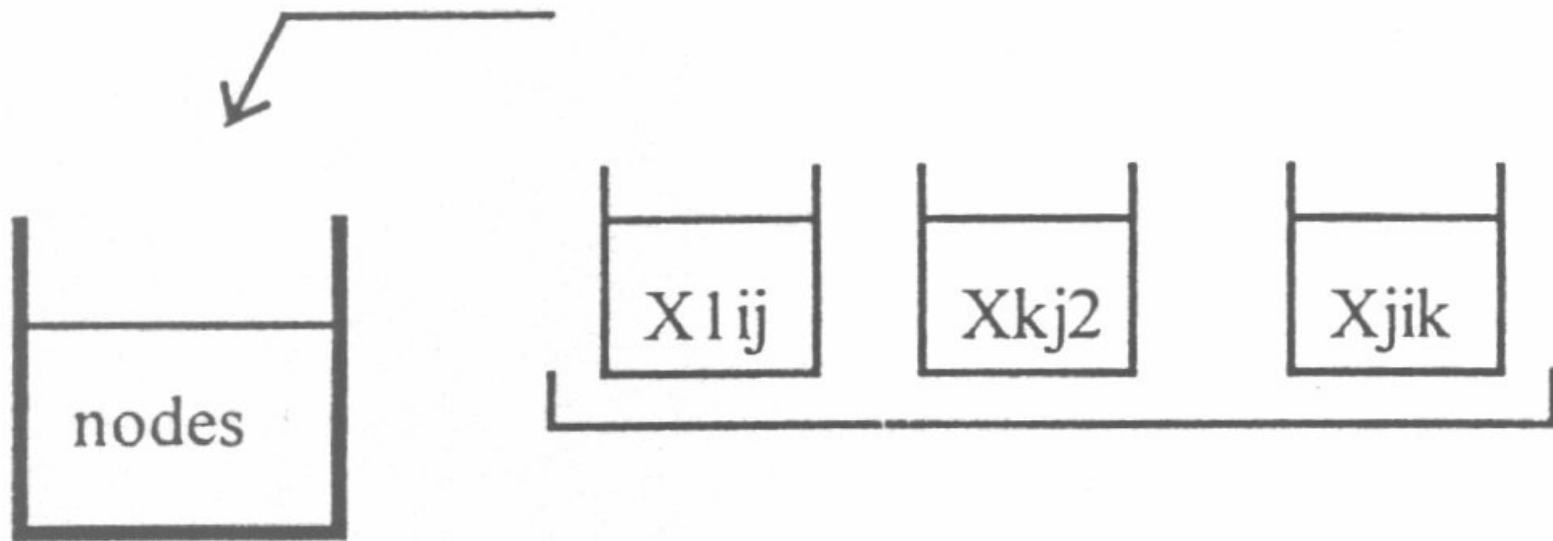
## DNA strands for encoding the decision tree



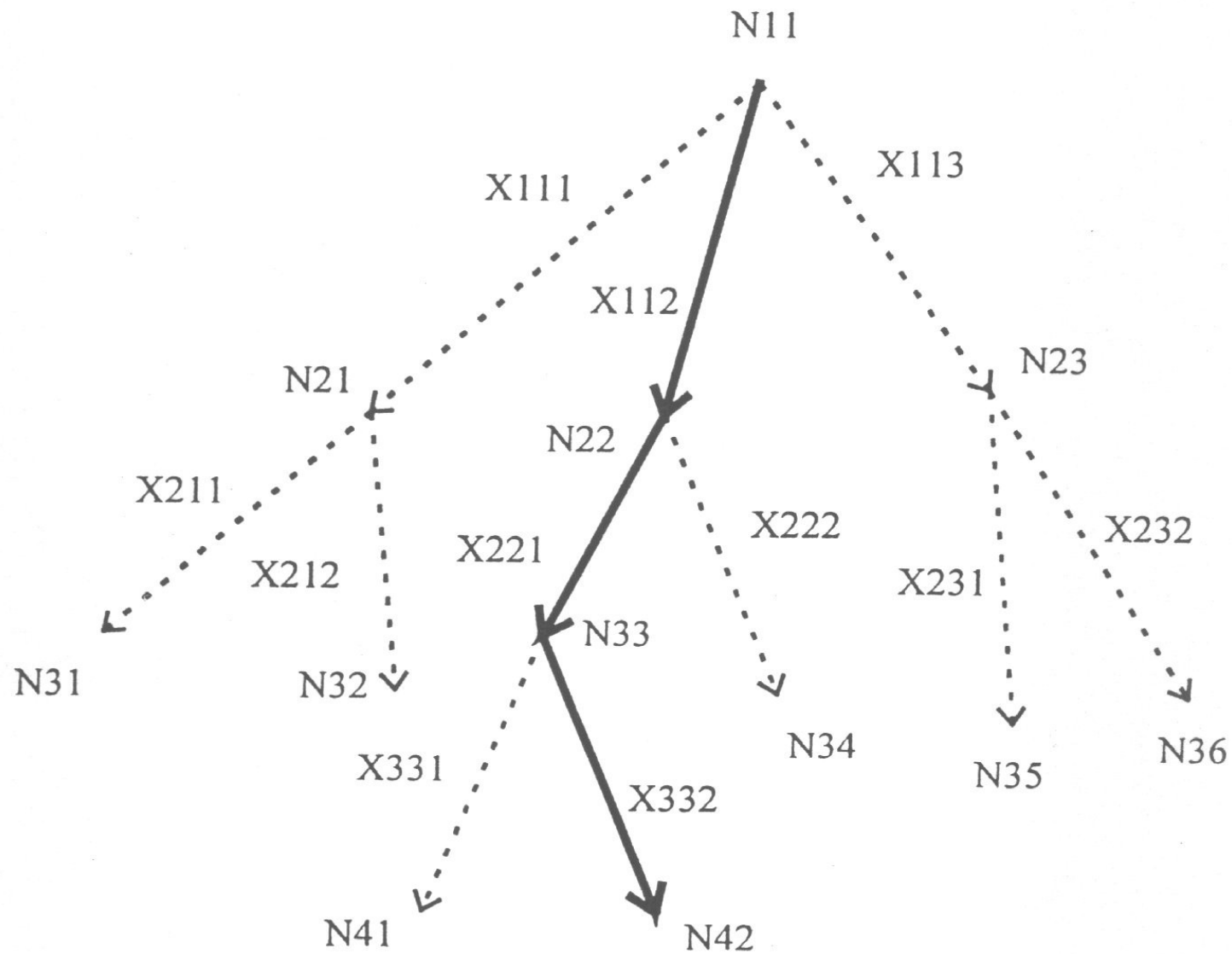
# DNA water solutions encoding the decision tree



# DNA water solutions after the consultation

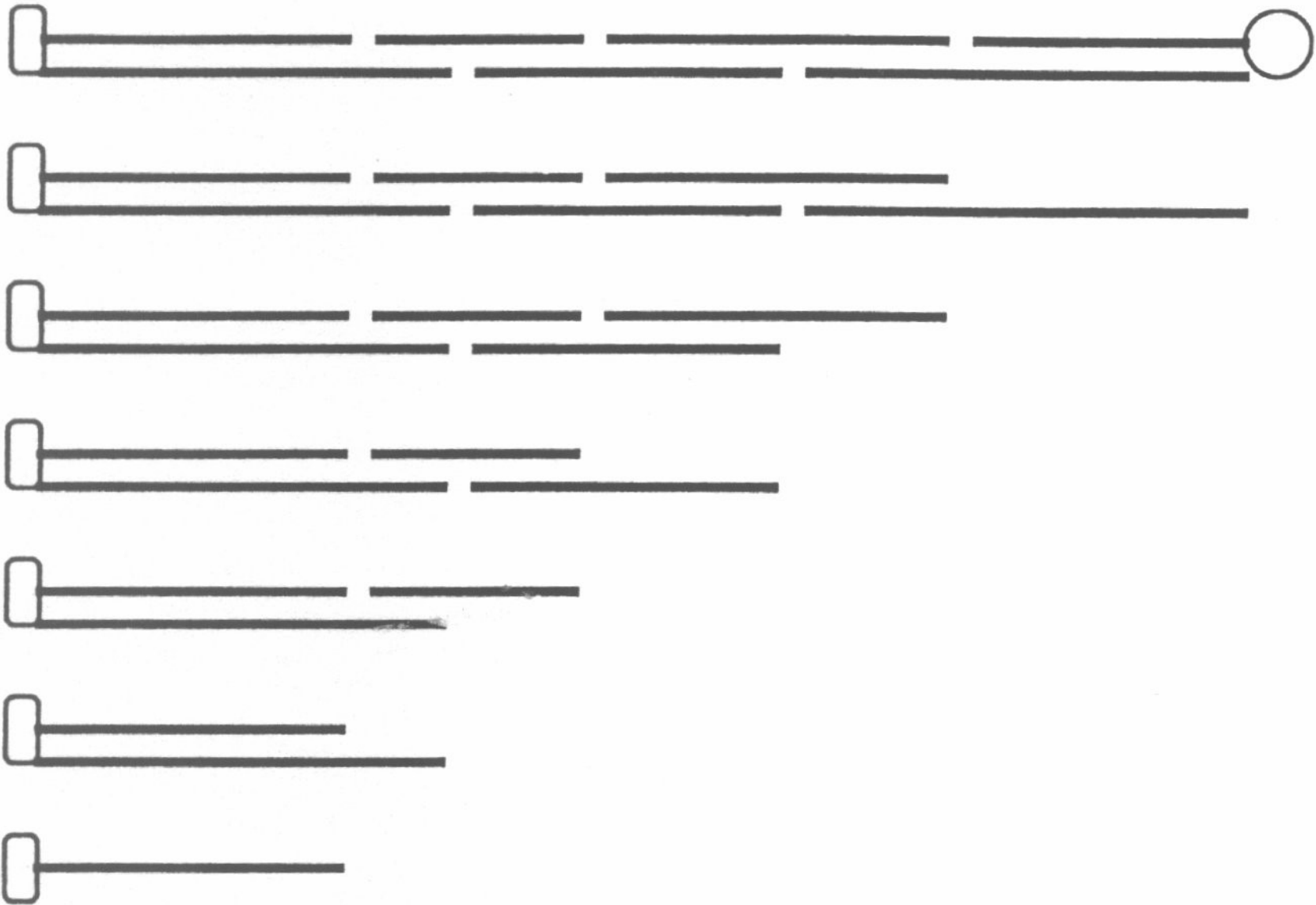


# An example of the inference path





# Possible chains of DNA after purification



# DNA inference path

