

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26540151

研究課題名（和文）分子が癌を診断する知的反応システムの創製

研究課題名（英文）Construction of an intelligent reaction system for molecular cancer diagnosis

研究代表者

小宮 健（Komiya, Ken）

東京工業大学・情報理工学院・助教

研究者番号：20396790

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、分子がmiRNAの転写パターン情報を処理して癌を診断する知的反応システムの構築に取り組んだ。この反応システムは、核酸増幅法と分子状態機械で構成される。核酸増幅法について、非特異的な増幅反応の抑制、および配列特異性の向上と検出する核酸形態の多様性拡張に成功し、検出の感度を向上させることができた。分子状態機械について、動作効率に影響を与える因子を特定して反応システムの設計を改良した。反応条件の最適化を継続して実施している。

研究成果の概要（英文）：In this study, we constructed and investigated an intelligent reaction system for allowing molecules to process information of transcription pattern and conduct cancer diagnosis. The present reaction system consists of a nucleic acid amplification method and a molecular state machine. In the development of nucleic acid amplification method, we achieved suppression of undesired non-specific amplification, improved reaction specificity and extended variation of detectable forms of nucleic acids. Finally, we improved the sensitivity of detection. In the development of molecular state machine, we revealed factors that affect the reaction efficiency and revised the design of reaction system. Optimization of reaction conditions is continuously implemented.

研究分野：DNAコンピューティング

キーワード：DNAコンピュータ DNAナノテクノロジー 核酸増幅法 分子状態機械 早期診断

1. 研究開始当初の背景

1980年以降、癌は日本人の死亡原因の第1位を占めている。現状では生存率が低い肺がん、すい臓がんなども、早期に発見できれば有効な治療が存在するが、タンパク質等のバイオマーカーを検出する従来の検査では感度が低く、異常を早期に検出することは難しい。近年、タンパク質や mRNA の発現・転写パターンよりも、遺伝子発現を制御するマイクロRNA (miRNA) の転写パターンを比較する方が、癌の種別や進行度、予後予測などをプロファイリングして正確に診断できることが報告されている。核酸は増幅ができるため、微量な miRNA を増幅検出して早期の段階で異常を発見し、高精度な診断を可能にする検査手法の開発が期待されている。しかし、miRNA は 22 塩基長程度と短い RNA であるため、通常は DNA への逆転写反応や、PCR 等での増幅に必要なプライマー配列を付加する前処理を人間が行う必要がある。その結果、検査の時間とコストが増大し、自動化することも難しい。さらに、プロファイリングには複数の miRNA を定量検出することが求められるので、より時間やコストがかかり、早期発見用の検査として多くの人に実施することは現実的でない。そこで研究代表者は、miRNA を簡易に検出できる新規な核酸増幅法を開発した。この新規核酸増幅法では、検出用のシグナルとなる DNA を一定量まで、miRNA の存在量に応じた時間で指数増幅する。この増幅法と、やはり研究代表者が開発した分子状態機械を組み合わせて、miRNA の転写パターン情報を分子反応が処理し、途中で人間が操作することなくプロファイリングが完了する早期診断用の知的反応システムを実現する。

2. 研究の目的

本研究課題「分子が癌を診断する知的反応システムの創製」では、癌の種別や進行度、予後予測などを正確に診断できる、情報処理能力を持った反応システムを構築する。この反応システムは、研究代表者がこれまでに開発した核酸増幅法と分子状態機械で構成される。検査サンプルと混合して等温条件下に置くだけで、分子が miRNA の転写パターン情報を処理して診断を行い、人間は最終結果を読みだすだけで良い。従来手法と比較して、高感度な検査を簡易な操作で実施できるようになり、これまで不可能だった肺がん、すい臓がん等の早期診断が実現される。多くの人を受けられる迅速で低コストな検査法として、生存率を大きく高めることが期待できる。

3. 研究の方法

初年度は、miRNA の存在量をシグナル DNA の生成によって評価するための、miRNA を逆転写せずに直接増幅して検出ができる核酸増幅法について、これを応用した

反応システムの構築に向けた性能の向上に取り組んだ。二年度目には、さらに配列特異性の向上と検出が可能な核酸形態の多様性を拡張する研究に取り組んだ。また、核酸増幅法で生成されるシグナル DNA を受けて動作する分子状態機械を活用した、診断用反応システムを構築するため、分子状態機械の動作効率が向上する設計や反応条件の検討を行った。そのなかで、従来の分子内結合を利用した設計では目標性能の達成が困難であることが判明したため、転写パターン情報を処理する能力は保持しつつ、モジュール性の向上や個別の最適化が可能な分子間結合を基本とする改変版の反応システムへと設計を変更した(図1)。三年度目には、改変版の分子状態機械について反応条件の最適化に取り組んだ。

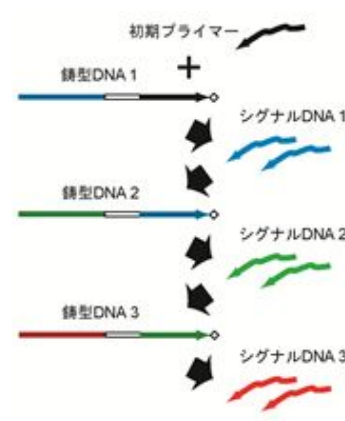


図1. DNA ポリメラーゼ伸長反応を利用して多段階に状態遷移する反応

4. 研究成果

(1) 臨床現場で求められる検出感度を達成するため、初年度は核酸増幅法の性能向上に重点的に取り組んだ。その結果、ターゲット非存在下での非特異的な増幅反応の抑制に成功し、検出の感度を向上させることができた(学会発表[13])。二年度目には、配列特異性の向上と検出する核酸形態の多様性拡張に取り組んだ。その結果、これまでと同等以上の感度性能を維持したままで配列特異的な検出を達成するとともに、miRNA 以外の核酸検出の実現可能性を示した。

(2) 二年度目からは、診断用反応システムを構成する分子状態機械の動作効率の向上に取り組む、設計の改良や反応条件の検討を行った。その結果、動作効率に影響を与える因子を特定したが、これを改善するために反応システムの設計を改変した(雑誌論文[2], 学会発表[1])。この反応システムについて、反応条件の最適化を継続して実施している。今後は、上記(1)の核酸増幅法と改良版の分子状態機械を統合して診断用反応システムを構築し、癌のプロファイリングに有用な miRNA を対象とした一連の動作の実現に取り組む。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

- [1] S. Kobayashi, K. Yanagibashi, K. Fujimoto, K. Komiya, M. Hagiya, "Analog DNA Computing Devices Toward the Control of Molecular Robots" Proceedings of Workshop on Self-organization in Swarm of Robots: from Molecular Robots to Mobile Agents (WSSR 2014), 査読無し, 2014, pp. 147-157, DOI: 10.1109/SRDSW.2014.7468414
- [2] K. Komiya, M. Yamamura, "Cascading DNA Generation Reaction for Controlling DNA Nanomachines at a Physiological Temperature" New Generation Computing, 査読有り, Vol. 33, No. 3, 2015, pp. 213-229, DOI: 10.1007/s00354-015-0304-5
- [3] J. A. Rose, K. Komiya, "Analysis and design of a single-molecule DNA nanodevice for thermal band-pass filters" Proceedings of the 11th IEEE Annual International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (NEMS), 査読有り, 2016, (6 pages), DOI: 10.1109/NEMS.2016.7758205
- [4] J. A. Rose, K. Komiya, S. Kobayashi, "Engineering multistate DNA molecules: a tunable thermal band-pass filter" Micro & Nano Letters, 査読有り, Vol. 11, No. 10, 2016, pp. 595-601, DOI: 10.1049/mnl.2016.0345
- [5] 小宮健, "DNA ナノマシン" 現代化学, 査読無し, 2016, No. 548, pp. 32-35

[学会発表](計 16 件)

- [1] K. Komiya, E. Harada, M. Yamamura, "A Sequential DNA Generation Circuit for Directing DNA Nanomachines" Proceedings of Twentieth International Meeting on DNA Computing and Molecular Programming (DNA20), 22-25 September 2014, Kyoto (Japan)
- [2] K. Komiya, "Implementation of in vitro intelligence for real-time operation of molecular robots" 第 52 回日本生物物理学会年会, 2014 年 9 月 27 日, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)
- [3] S. Kobayashi, K. Yanagibashi, K. Fujimoto, K. Komiya, M. Hagiya, "Analog DNA Computing Devices Toward the Control of Molecular Robots" Proceedings of Workshop on Self-organization in Swarm of Robots: from Molecular Robots to Mobile Agents (WSSR 2014), 6 October 2014, Nara (Japan)
- [4] 外館悠仁, 小宮健, 山村雅幸, "DNA ナノ

マシンによる歩行動作の温度特性の検証"日本機械学会 第 6 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2014 年 10 月 21 日, くにびきメッセ (鳥根県・松江市)

- [5] 小宮健, 山村雅幸, "DNA 応答型ナノマシンの動作を指定する DNA シグナル生成機構の構築" 日本機械学会 第 6 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2014 年 10 月 21 日, くにびきメッセ (鳥根県・松江市)
- [6] 小宮健, "DNA シグナル等温指数増幅法の開発" 分子ロボティクス研究会 1 月研究会, 2015 年 1 月 23 日, 鳥取大学工学部, (鳥取県・鳥取市)
- [7] 小宮健, 小森誠, 原田えりみ, 根本崇, 山村雅幸, 吉村徹, "高感度核酸検査に向けた等温指数増幅反応系の構築" 日本化学会第 95 春季年会, 2015 年 3 月 26 日, 日本大学理工学部船橋キャンパス (千葉県・船橋市)
- [8] 小宮健, "DNA コンピュータを確実に動かす DNA シグナル増幅反応" 新学術領域「ゆらぎと構造」+「分子ロボティクス」合同研究会, 2015 年 6 月 27 日, 東京大学本郷キャンパス (東京都・文京区)
- [9] K. Komiya, K. Dong, T. Takenaka, M. Yamamura, "Construction of a DNA generation reaction system for autonomous DNA-based computing at a physiological temperature" 第 53 回日本生物物理学会年会, 2015 年 9 月 13 日, 金沢大学角間キャンパス (石川県・金沢市)
- [10] K. Komiya, C. Noda, M. Yamamura, "Construction of a DNA Generation Circuit for a Molecular Robot" CBI 学会 2015 年大会, 2015 年 10 月 27-29 日, タワーホール船堀 (東京都・江戸川区)
- [11] 小宮健, "DNA シグナル生成反応の展開" 人工知能学会合同研究会 第 59 回分子生物情報研究会 (SIG-MBI), 2015 年 11 月 14 日, 慶應義塾大学日吉キャンパス, 横浜市, 招待講演ではない
- [12] J. A. Rose, K. Komiya, "Analysis and Design of a Single-Molecule DNA Nanodevice for Thermal Band-Pass Filters" The 11th Annual IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (IEEE-NEMS 2016), 2016 年 4 月 18 日, Matsushima Bay and Sendai MEMS City (Japan)
- [13] K. Komiya, C. Noda, M. Komori, K. Dong, T. Takenaka, T. Enomoto, T. Yoshimura, M. Yamamura, "Construction of an isothermal DNA amplification reaction system for simplified nucleic acid test" 第 10 回バイオ関連化学シンポジウム, 2016 年 9 月 7-9 日, 石川県立音楽堂 もてなしドーム地下イベント広場 (石川県・金沢市)
- [14] I. Kawamata, S. Kawakami, Y.-C. Chen, S. Hiratsuka, S. Aradachi, D. Tamatsuki, H. Yuuki, T. Takahashi, E.

Ishihara, S. Imai, H. Otaka, Y. Otaki, K. Suzuki, T. Watanabe, K. Komiya, F. Takabatake, S. Nomura, S. Murata, "Autonomous and Programmable Strand Generator Implemented as DNA Chemical Reaction Network" Proceedings of Twentysecond International Meeting on DNA Computing and Molecular Programming (DNA22), 5 September 2016, Ludwig-Maximilians-Universitat Munchen, Munich (Germany)

[15] 小宮健, 若林優太, 山村雅幸, "翻訳機構の進化過程解明に向けたリボソームの立体構造比較"「細胞を創る」研究会 9.0, 2016年11月21-22日, 早稲田大学(東京都・新宿区)

[16] 若林優太, 小宮健, 山村雅幸, "好熱性細菌を対象としたリボソームの立体構造比較"極限環境生物学会2016年度(第17回)年会, 2016年11月25-26日, 東京工業大学すずかけ台キャンパス(神奈川県・横浜市)

〔図書〕(計 1件)

[1] 村田智, 浜田省吾, 小宮健, ほか 全21名, 情報計算化学生物学会(CBI学会)出版, "DNA分子デザインのすべて~BIOMOD虎の巻~" 2016, 全224頁, ISBN 978-4-9903708-9-3

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
<http://bio-inspired.chemistry.tpu.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小宮 健 (Ken Komiya)
東京工業大学・情報理工学院・助教
研究者番号: 20396790

(2) 研究分担者 ()

研究者番号:

(3) 連携研究者 ()

研究者番号:

(4) 研究協力者 ()