慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	微小化学反応系における確率ゆらぎのフィードバック制御理論と実験基盤の構築
Sub Title	Feedback control theory and experimental platform for designing stochastic chemical reactions
Author	堀, 豊(Hori, Yutaka)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究の目的は, 微生物細胞のような微小体積の空間で生じる確率的な生化学反応系のダイナミクスを, 制御理論や遺伝子組み換えの技術を用いて体系的に設計・構築するためのモデルベースの設計理論と実験基盤を提案することである。 本年度は, ①確率モデルに基づいて望みの反応を設計するための数理最適化アルゴリズムと②遺伝子回路のダイナミクスを人工的にコントロールされた環境下で観察するための実験系の2つを並行して構築した。 ①では, 確率モデルに基づいて, 反応に関与する分子の個体数の平均値, 分散, CVなどの統計量を望みの値に収束させるための遺伝子回路の設計ツールを構築した。具体的には, 平成28年度に開発した「確率モーメントの厳密な計算法」を発展させることで, 分子個体数の確率モーメントが所与の設計仕様を満たすために必要な設計パラメタ空間(反応率など)を, 数理最適化に基づいて効率的に探索するためのアルゴリズムを開発した。確率的にゆらぐ反応系の設計は, 従来, 近似シミュレーションに基づくものがほとんどであったが, 提案法は, 仕様を満たすパラメタを厳密に同定することができるため, より口バストな設計が実現可能になると期待できる。そこで, 提案法の有用性を実証するために, 実験で実現可能な遺伝子回路の設計問題を考え, 確率ゆらぎを効率的に低減するための負帰還反応系のパラメタを明らかにした。これらの成果をまとめ, 国際会議論文とジャーナル論文を出版することができ, 米国の研究グループとの共同研究へと発展させることができた。 ②では, 指定された濃度のDNAや低分子化合物を動的に入力可能なナノリットルスケールの反応容器を持つマイクロ流路デバイス(平成28年度開発)の改良を行い, 入力量の精密な制御を行うことが可能となり, フルオレセイン溶液を用いた実証実験を行った。さらに, 遺伝子回路のDNAサンプルを用いて同様の実証実験を行うために, 必要なプラスミドDNAを用意し, 無細胞タンパク質合成系を用いて予定通りの遺伝子発現が得られることを確認できた。 The kinetics of chemical reactions in micro-scale compartments such as biological cells are known to be highly stochastic due to the low copy nature of molecules in the compartment. The objective of this research is to develop both theoretical and experimental platforms to analyze and design the dynamics of stochastic biomolecular reactions by combining feedback control theory and genetic engineering. In FY 2017, we developed (1) a mathematical optimization algorithm for model-based design of stochastic biomolecular reactions, and (2) an experimental platform to measure the dynamics of genetic circuits in a controlled microfluidic environment. Specifically, we proposed a computational design tool that systematically scans the parameter space of reactions and finds the set of parameters with which the copy number of molecules converges to pre-specified values of the mean, the variance and the coefficient of variation, which is an extension of a moment computation method that we developed in FY 2016. The proposed approach allows for the characterization of the parameter space without approximation and/or a priori knowledge of the underlying stochastic distributions of molecular copy numbers. We demonstrated the proposed algorithm by designing a negative feedback biomolecular circuit and revealed the parameter space with which the noise attenuation is achieved. These results are published in an international conference proceedings and an international journal. We have also developed a nano-liter scale microreactor that enables dynamic input modulation of chemicals and demonstrated with fluorescein solution. This technology will potentially enable frequency response characterization of biomolecular reactions. For this goal, we prepared plasmid DNAs and confirmed in vitro gene expression using a cell-free protein expression system.
Notes	
Genre	Research Paper

URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170225

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2017年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

2018年3月30日

研究代表者	所属	理工学部	職名	助教（有期）	補助額	1,000 （特A）千円
	氏名	堀 豊	氏名（英語）	Yutaka Hori		

研究課題（日本語）

微小化学反応系における確率ゆらぎのフィードバック制御理論と実験基盤の構築

研究課題（英訳）

Feedback control theory and experimental platform for designing stochastic chemical reactions

１．研究成果実績の概要

本研究の目的は，微生物細胞のような微小体積の空間で生じる確率的な生化学反応系のダイナミクスを，制御理論や遺伝子組み換えの技術を用いて体系的に設計・構築するためのモデルベースの設計理論と実験基盤を提案することである．

本年度は，①確率モデルに基づいて望みの反応を設計するための数理最適化アルゴリズムと②遺伝子回路のダイナミクスを人工的にコントロールされた環境下で観察するための実験系の2つを並行して構築した．

①では，確率モデルに基づいて，反応に関与する分子の個体数の平均値，分散，CVなどの統計量を望みの値に収束させるための遺伝子回路の設計ツールを構築した．具体的には，平成28年度に開発した「確率モーメントの厳密な計算法」を発展させることで，分子個体数の確率モーメントが所与の設計仕様を満たすために必要な設計パラメタ空間(反応率など)を，数理最適化に基づいて効率的に探索するためのアルゴリズムを開発した．確率的にゆらぐ反応系の設計は，従来，近似シミュレーションに基づくものがほとんどであったが，提案法は，仕様を満たすパラメタを厳密に同定することができるため，よりロバストな設計が実現可能になると期待できる．そこで，提案法の有用性を実証するために，実験で実現可能な遺伝子回路の設計問題を考え，確率ゆらぎを効率的に低減するための負帰還反応系のパラメタを明らかにした．これらの成果をまとめ，国際会議論文とジャーナル論文を出版することができ，米国の研究グループとの共同研究へと発展させることができた．

②では，指定された濃度のDNAや低分子化合物を動的に入力可能なナノリットルスケールの反応容器を持つマイクロ流路デバイス(平成28年度開発)の改良を行い，入力量の精密な制御を行うことが可能となり，フルオレセイン溶液を用いた実証実験を行った．さらに，遺伝子回路のDNAサンプルを用いて同様の実証実験を行うために，必要なプラスミドDNAを用意し，無細胞タンパク質合成系を用いて予定通りの遺伝子発現が得られることを確認できた．

２．研究成果実績の概要（英訳）

The kinetics of chemical reactions in micro-scale compartments such as biological cells are known to be highly stochastic due to the low copy nature of molecules in the compartment. The objective of this research is to develop both theoretical and experimental platforms to analyze and design the dynamics of stochastic biomolecular reactions by combining feedback control theory and genetic engineering.

In FY 2017, we developed (1) a mathematical optimization algorithm for model-based design of stochastic biomolecular reactions, and (2) an experimental platform to measure the dynamics of genetic circuits in a controlled microfluidic environment.

Specifically, we proposed a computational design tool that systematically scans the parameter space of reactions and finds the set of parameters with which the copy number of molecules converges to pre-specified values of the mean, the variance and the coefficient of variation, which is an extension of a moment computation method that we developed in FY 2016. The proposed approach allows for the characterization of the parameter space without approximation and/or a priori knowledge of the underlying stochastic distributions of molecular copy numbers. We demonstrated the proposed algorithm by designing a negative feedback biomolecular circuit and revealed the parameter space with which the noise attenuation is achieved. These results are published in an international conference proceedings and an international journal.

We have also developed a nano-liter scale microreactor that enables dynamic input modulation of chemicals and demonstrated with fluorescein solution. This technology will potentially enable frequency response characterization of biomolecular reactions. For this goal, we prepared plasmid DNAs and confirmed in vitro gene expression using a cell-free protein expression system.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）
若命，堀	生体分子反応を動的に制御するためのマイクロアクチュエータ	第1回分子ロボティクス年次大会	2018年3月
Y. Sakurai, Y. Hori	Optimization-based synthesis of stochastic biocircuits with statistical specifications	Journal of the Royal Society Interface	2018年1月
Y. Sakurai, Y. Hori	A Convex Approach to Steady State Moment Analysis for Stochastic Chemical Reactions	Proceedgins of IEEE Conference on Decision and Control	2017年12月
堀，櫻井	統計的仕様に基づく遺伝子回路のロバスト設計	第60回自動制御連合講演会	2017年11月