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

Title	第一原理モデルとデータ駆動型モデルの融合による遺伝子回路のロバスト動態予測
Sub Title	Robust prediction of the dynamics of biocircuits using integrated first-principles and data-driven models
Author	堀, 豊(Hori, Yutaka)
Publisher	
Publication year	2022
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	生体分子を材料とする人工的な分子反応システムのダイナミクスを，数理モデルを用いて解析・設計するための理論的な枠組み，およびそのモデル構築に必要なデータを効率的に取得する実験系を構築し，分子システム設計に応用することで有用性を示した．特に，物理法則から導かれる第一原理モデルを，実験データから学習される機械学習モデルで補完する方法を提案し，第一原理モデルだけでは捉えることが難しい複雑な反応環境場の影響を考慮した反応予測モデルを構築した．また，反応環境場がわずかずつ異なる系を大量に生成してモデルの同定に利用するためのマイクロ流体実験系を構築し，その有用性を検証した． We developed a theoretical framework for analyzing and designing the dynamics of biomolecular systems using a mathematical model, and an experimental platform that efficiently supplements data necessary for constructing such models. Specifically, we developed a modeling framework that combines the first-principles model derived from physical laws with a machine learning model learned from experimental data. The proposed framework enabled robust prediction and analysis of systems' dynamics that takes into account the influence of environmental factors, which was difficult to capture with the first-principles model alone. A microfluidic system was also developed to generate a large number of parallel reaction systems with slightly different environmental factors and use for model identification.
Notes	研究種目：基盤研究 (B) (一般) 研究期間：2018～2021 課題番号：18H01464 研究分野：制御工学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_18H01464seika

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.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　 ５ 月 ２９ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2018～2021
課題番号：１８Ｈ０１４６４

研究課題名（和文）第一原理モデルとデータ駆動型モデルの融合による遺伝子回路のロバスト動態予測

研究課題名（英文）Robust Prediction of the Dynamics of Biocircuits using Integrated First-Principles and Data-Driven Models

研究代表者
堀　豊（Hori, Yutaka）

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・准教授

研究者番号：１０７７８５９１

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　11,400,000円

研究成果の概要（和文）：生体分子を材料とする人工的な分子反応システムのダイナミクスを，数理モデルを用いて解析・設計するための理論的な枠組み，およびそのモデル構築に必要なデータを効率的に取得する実験系を構築し，分子システム設計に応用することで有用性を示した．特に，物理法則から導かれる第一原理モデルを，実験データから学習される機械学習モデルで補完する方法を提案し，第一原理モデルだけでは捉えることが難しい複雑な反応環境場の影響を考慮した反応予測モデルを構築した．また，反応環境場がわずかずつ異なる系を大量に生成してモデルの同定に利用するためのマイクロ流体実験系を構築し，その有用性を検証した．

研究成果の学術的意義や社会的意義
生体分子システムの持つ様々な不確かさに対してロバスト性の高いモデルベースの反応設計法を提案したことで，多分子・多機能の分子システムのモデルベース開発が容易になる．これにより，反応ネットワークの作用機序をボトムアップ的なアプローチで探求する学術研究や，分子システムの工学応用を目指す研究開発が加速すると期待される．
また，生体分子の反応ネットワークが持つ数理的な構造や不確かさを，制御工学や機械学習の理論と関連させてシステム論的に捉えるためのフレームワークを提案した点は，システム科学の発展においても学術的な意義がある．

研究成果の概要（英文）：We developed a theoretical framework for analyzing and designing the dynamics of biomolecular systems using a mathematical model, and an experimental platform that efficiently supplements data necessary for constructing such models. Specifically, we developed a modeling framework that combines the first-principles model derived from physical laws with a machine learning model learned from experimental data. The proposed framework enabled robust prediction and analysis of systems' dynamics that takes into account the influence of environmental factors, which was difficult to capture with the first-principles model alone. A microfluidic system was also developed to generate a large number of parallel reaction systems with slightly different environmental factors and use for model identification.

研究分野：制御工学

キーワード：制御工学　生体分子システム　マイクロ流体

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

近年，DNA，ペプチド，タンパク質などの生体分子を利用して「生体分子システム」と呼ばれる人工的な分子反応システムを構築し，試験管あるいは宿主細胞の中で機能を発現させて工学的な応用に繋げようとする研究が盛んに行われている [1, 2]．生体分子システムは，DNA やタンパク質などの生体分子濃度を望みの値に調整することで機能を発現するため，反応速度や反応ネットワーク構造（例えばフィードバックの構造）などの設計が重要であり，その設計には，工学分野で広く用いられるモデルベース設計の考え方を取り入れることが多い．既存のモデルベース設計では，対象が従う物理法則（反応速度論）に基づいて着目する反応のダイナミクスを微分方程式で記述し，その方程式を数値シミュレーションしたり数理的に解析したりすることで，システムに望みの応答を持たせるように DNA の配列設計や反応構造の設計を行うというものが多い．

しかし，実験室で構築される現実の生体分子システムは，反応速度論により得られる微分方程式では記述されない様々な不確かさを有することが知られており，モデル化誤差による解析・設計の精度の低さが問題となることがある．具体的には，人工的に設計した生体分子システムと，反応の環境場（例えば，温度，pH，リソースとなる分子の競合）の相互作用は，モデル構築の過程では単純化のために考慮されないことが多く，モデルベースで設計された生体分子システムのロバスト性の低さの一因となっている．

以上の背景から，反応環境場の不確かさを考慮した数理モデルの構築が望まれるが，温度や分子の競合による反応阻害の影響を第一原理に基づいて精緻にモデル化するためにはいくつかの乗り越えるべき課題が存在する:

(1) 反応のリソース分子を供給する反応ネットワークには未同定の要素や経路が多い
(2) 反応の温度や pH 依存的な挙動を考慮した一般的な反応ネットワークのモデルが確立していない
(3) 反応環境場の入出力応答データセットやそれを高速かつ大量に取得するためのプラットフォームが乏しい

そこで，構造が既知の反応系に対する微分方程式モデル（硬いモデル）と，構造の自由度が大きくデータを用いて更新可能な機械学習モデル（柔らかいモデル）を組み合わせることで，厳密性と柔軟性を兼ね備えた生体分子システムの解析 ・設計フレームワークを創出することが考えられる．さらに，同定実験とモデル更新を効率的に反復するための実験プラットフォームとして，温度などの「外的な環境場」や，反応リソース分子の競合などの「内的な環境場」の変動に対する反応系の応答データを高速かつ大量に取得できる実験系の構築が望まれる．

２．研究の目的

本研究の目的は，不確かさの大きな生体分子システムのダイナイクスを予測，解析，設計するためのシステム論的な枠組みを創出すること，およびモデルの同定や学習を目的としたデータ生成用の実験系を構築することである．特に，既知の（自ら設計した）反応ネットワークに対してボトムアップで構築する第一原理モデル（微分方程式モデルなど）を，実験データから帰納的なアプローチで作成するデータ駆動型モデル（機械学習モデル）で補完することで，第一原理モデルだけでは捉えることが難しい反応環境場の影響を考慮した数理モデルを構築することを目標とする．また，反応環境場がわずかずつ異なる反応系を大量に生成し，入出力応答データを効率的に取得してモデルの同定に利用可能な実験プラットフォームを確立することを目標とする．

３．研究の方法

生体分子反応システムの不確かな応答を考慮した上で，挙動の予測，解析，設計を行うために大きく分けて 2 つのアプローチで理論的な枠組みの構築を行った．また，モデルの学習・同定を目的として環境場応答のデータを短時間で大量に取得するためのマイクロ流体実験系の構築を行い，取得した実験データを用いて環境場応答モデルのシステム同定を行った．以下では，その具体的な方法とアプローチを述べる．

(1) ガウス過程状態空間モデルと決定論モデルの融合による生体分子システムの状態分布予測と制御

生体分子システムの状態（分子の濃度）や環境場の不確かさを分布で表現し，その時間発展を記述するガウス過程状態空間モデルを構築することで，挙動の予測や設計を行う方法を構築した．また，決定論的なモデルで記述される制御器との閉ループ系を構成することで，不確かな生体分子システムの状態分布を制御する方法を検討した．

(2) リソースに制約のある生体分子システムの有限時間安定性解析法

試験管内で実装される反応系においてエネルギー源となるリソース分子の競合や枯渇により，設計した（着目する）生体分子システムが設計の動作点から乖離し，所望の挙動を継続できなく

なる時刻を解析するための数理的な方法論を検討した．特に，生体分子反応が多項式システムで表現できることに着目することで，上記の問題を多項式システムの有限時間安定性解析問題に帰着し，数理最適化問題として定式化した（本アプローチは研究の過程で着想を得たものであるため，当初の想定とはやや異なる方向に発展した）．

(3)環境場に対する応答を並列計測するためのマイクロリアクタ

核酸などの分子を含む油中液滴(ドロップレット)を短時間で大量に生成し，パラメタがわずかずつ異なる反応溶液を並列計測するためのマイクロ流体デバイス，および顕微観察系を構築した．具体的には，①液滴生成のための PDMS 樹脂製マイクロ流体デバイスを構築し，②生成した液滴を温度勾配下で並列計測するための顕微観察系を構築することで，異なる反応温度場やリソース分子濃度に対する生体分子反応系の並列応答計測を実現し，得られたデータを用いて環境場応答モデルのシステム同定を行った．

４．研究成果

(1)ガウス過程状態空間モデルと決定論モデルの融合による生体分子システムの状態分布予測と制御

結果①：生体分子システムにおける状態分布の時間発展を記述するガウス過程状態空間モデルを構築し，将来の予測分布を効率的に予測するための効率的な計算アルゴリズムを構築した．ここで，ガウス過程状態空間モデルとは，状態空間のベクトル場があるガウス過程から生成されるという仮定の下で，データからガウス過程のパラメタを学習して得られるモデルのことである．提案法では，生体分子システムに現れる多峰性の状態分布を想定し，システムの状態分布を混合ガウス分布で近似的に表現する．この分布の時間発展を計算するために，まず，既存の多段先予測分布の計算法［3］を拡張して，1 時刻先の予測分布の平均と分散が満たすべき方程式を導いた．

図 1 は，実験データ（図中の例題は数値シミュレーションにより生成したデータ）を用いて同定した遺伝子制御システムの状態空間(図 1(B))と，提案法によって予測された，近似計算された 2 時刻先の状態分布の予測例（図 1(C)）である．このように，データ駆動的に構築されたモデルを用いて生体分子システムの時間発展の予測を実現した．

さらに，上記の結果を発展させて予測精度を向上させることを目標に，混合ガウス分布のパラメタを動的に（適応的に）決定するための拡張を行った．一方，状態変数の増加に伴う予測精度の悪化や計算量の増加は解決すべき課題として残った．

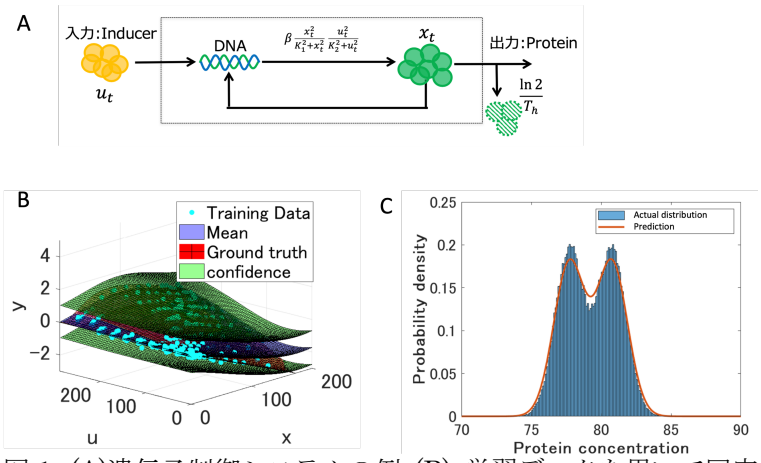

図 1: (A)遺伝子制御システムの例 (B) 学習データを用いて同定されたガウス過程状態空間 (C) 2 時刻先の状態分布と提案法による推定分布の比較

結果②：上記のモデルと予測法を利用して，状態を所望の分布に制御するための（モデルベースの決定論的な）フィードバック制御器の設計法を構築した．具体的には，多時刻先の状態分布が所望の仕様を満たすように，ガウス過程状態空間モデルに対して決定論的なフィードバック制御器を設計する問題を考え，機会制約付き数理最適化問題を用いて制御ゲインを設計するアルゴリズムを構築した．数値例を通して検証を行った結果，短い予測ホライズンの機会制約に対する有効性が確認できた．一方，長い予測ホライズンに対する制約を付した場合は，予測分布の精度悪化が顕著になり有効な結果は得られなかった．

(2)リソースに制約のある生体分子システムの有限時間安定性解析法

質量作用の法則から導かれる多項式システムに対して，有限時間安定性（ここでの定義は，システムの状態が所与の時間内に所与の動作領域に留まること）の解析を行うための数理最適化問題を導出し，実問題に適用することで有用性の評価を行った．具体的には，リソース分子の初期濃度やパラメタに不確かさがある生体分子システムが，所与の初期値集合から発展した時に動作領域の境界に初到達する時刻の上下限を，半正定値計画法によって求める方法を開発した．また，同手法を分子リソースに制約のある DNA 回路および遺伝子制御システムの解析に適用することで有用性を確認した．

図 2 は，Regenerator 機構と呼ばれる DNA 回路(図 2(A))を解析した例である．提案法は，図 2(B)の例に示すように，初期値（またはパラメタ）に不確かさがある反応系が動作領域

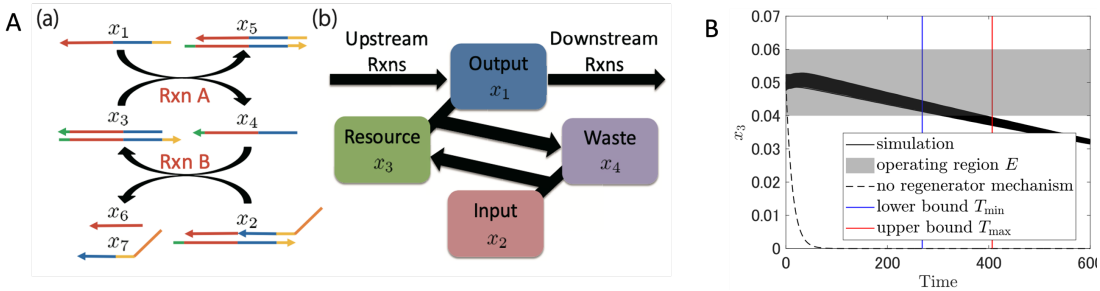

図 2： リソースに制約のある生体分子システムの有限時間安定性解析の例．(A) Regenerator DNA 回路 (B) 初期値に不確かさのあるリソース分子のダイナミクスと動作領域の境界に初到達する時刻の上下限値（赤・青線；提案法で求めた値）

(operating region)から初めて逸脱する時刻の上下限（図中の青線と赤線）を，数理最適化に基づいて（数学的に厳密に）求めることができる．本手法を用いることで，*in vitro* で動作する反応システムがリソース分子の枯渇によって期待された挙動から逸脱する時刻を見積もることができるようになるため，生体分子システムのロバスト性を理論的に保証したり，リソースの補充タイミングを予測したりすることができるようになる．また，設計問題への拡張も期待できる．

(3)環境場に対する応答を並列計測するためのマイクロリアクタ

Flow-focusing 型の PDMS 樹脂製マイクロ流体デバイスを構築し，組成の異なる DNA 溶液や無細胞タンパク質合成系を含む油中液滴を生成する系を構築した．さらに，その下流で液滴を並列に並べて経時計測するためのチャンバーを設計し，顕微鏡のオートステージと自動撮像系を組み合わせることで，わずかずつ異なる環境場（図 3 の例では温度場）に対する生体分子システムの応答を経時計測する実験プラットフォームを構築した．この実験プラットフォームを利用して，生体分子システムの同定用データを短時間で大量に取得することが可能となった．

構築した実験系を用いて生体分子システムの温度依存的な応答を計測するプラットフォームを図 3 に示す．図 3 では，一例としてヘアピン構造の DNA の両端に蛍光分子と消光分子を修飾したものを液滴に封入し，温度依存的なヘアピンの開裂を利用して溶液温度を並列計測した例を示した．図 3(A,B)に示すように，蛍光強度を利用して液滴内や液滴周辺の温度計測をすることができるため，設計した（着目する）生体分子システムを同じ液滴あるいは周囲の液滴に封入して挙動を観察することで，システムの温度応答を並列計測できるようになった（図 3(C)）．

このようにして取得した環境場応答のデータを利用して，小規模な生体分子システムの温度依存的なダイナミクスのシステム同定を行い実験プラットフォームの有効性を確認した．一方，上記(1)で示したガウス過程状態空間モデルの学習データとしても活用する予定であったが，モデルの精度に課題があることが研究の過程で明らかになったため，今後は本研究の過程で着想を得た別の確率論的なモデルの同定データとして活用することを検討したい．

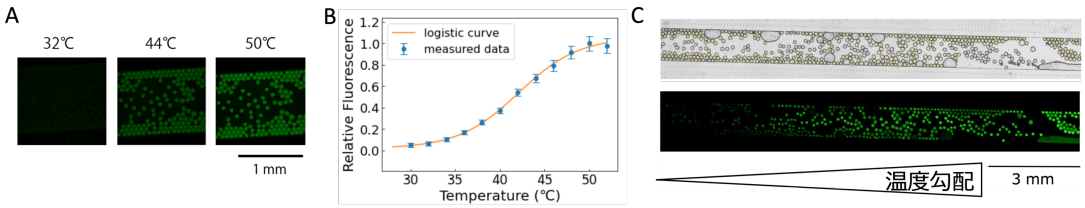

図 3： 並列リアクタによる温度計測の例．(A, B) 液滴中で温度依存的に開裂する DNA の計測例 (C)温度勾配下で液滴を並列計測した際の観察結果．

参考文献

[1] J. A. N. Brophy and C. A. Voigt, “Principles of genetic circuit design,” *Nature methods* vol. 11, no. 5, pp. 508-20, 2014.

[2] D. Zhang and G. Seelig, “Dynamic DNA nanotechnology using strand-displacement reactions,” *Nature Chemistry*, vol. 3, no. 2, pp. 103-113, 2011.

[3] M. P. Deisenroth, D. Fox, and C. E. Rasmussen, “Gaussian processes for data-efficient learning in robotics and control,” *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 37, no. 2, pp. 408-423, 2015.

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計4件（うち査読付論文　4件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　0件）

１．著者名 Matsunaga Tomoki, Uemura Ryosuke, Hori Yutaka	４．巻 5
２．論文標題 Finite-Time Stability Analysis for Resource Limited Chemical Reactions	５．発行年 2021年
３．雑誌名 IEEE Control Systems Letters	６．最初と最後の頁 815～820
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/LCSYS.2020.3006052	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Yuta Sakurai, Yutaka Hori	４．巻 3
２．論文標題 Bounding Transient Moments of Stochastic Chemical Reactions	５．発行年 2019年
３．雑誌名 IEEE Control Systems Letters	６．最初と最後の頁 290～295
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/LCSYS.2018.2869639	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Yutaka Hori, Hiroki Miyazako	４．巻 16
２．論文標題 Analysing diffusion and flow-driven instability using semidefinite programming	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Journal of The Royal Society Interface	６．最初と最後の頁 20180586
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsif.2018.0586	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Shinji Hara, Tetsuya Iwasaki, Yutaka Hori	４．巻 136
２．論文標題 Instability margin analysis for parametrized LTI systems with application to repressilator	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Automatica	６．最初と最後の頁 110047
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.automatica.2021.110047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

〔学会発表〕　計17件（うち招待講演　0件／うち国際学会　6件）

1．発表者名
増元 由佳，大川 佳寛，佐々木 智丈，堀 豊

2．発表標題
非線形最適レギュレータ問題に対するモデルフリー二段階設計による過渡学習性能の改善

3．学会等名
計測自動制御学会第8回制御部門マルチシンポジウム

4．発表年
2021年

1．発表者名
Shinji Hara, Tetsuya Iwasaki, Yutaka Hori

2．発表標題
Robust Instability Radius for Multi-agent Dynamical Systems with Cyclic Structure

3．学会等名
SICE International Symposium on Control Systems（国際学会）

4．発表年
2021年

1．発表者名
Shinji Hara, Tetsuya Iwasaki, Yutaka Hori

2．発表標題
Robust Instability Analysis with Application to Neuronal Dynamics

3．学会等名
IEEE Conference on Decision and Control（国際学会）

4．発表年
2020年

1．発表者名
堀 豊，宮廻 裕樹

2．発表標題
数理最適化による反応移流拡散システムのパターン形成解析

3．学会等名
第63回自動制御連合講演会

4．発表年
2020年

１．発表者名
小塚 太資，堀 豊

２．発表標題
空間周波数サブシステム分解に基づく細胞間分子通信システムの外乱応答解析

３．学会等名
第63回自動制御連合講演会

４．発表年
2020年

１．発表者名
古志 飛，堀 豊

２．発表標題
温度計を内包したドロップレットによる DNA 回路の温度特性計測

３．学会等名
第4回分子ロボティクス年次大会

４．発表年
2020年

１．発表者名
Taishi Kotsuka, Yutaka Hori

２．発表標題
Disturbance response analysis of cell-to-cell communication systems based on spatial frequency decomposition

３．学会等名
IFAC Conference on Foundations of Systems Biology in Engineering（国際学会）

４．発表年
2019年

１．発表者名
Yutaka Hori, Hiroki Miyazako

２．発表標題
Semidefinite programming for Turing instability analysis in molecular communication networks

３．学会等名
IEEE Conference on Decision and Control（国際学会）

４．発表年
2019年

１．発表者名
松永知樹，植村涼良，堀豊

２．発表標題
リソースに制約のある化学反応の有限時間安定性の解析法

３．学会等名
第7回制御部門マルチシンポジウム

４．発表年
2020年

１．発表者名
増元由佳，堀豊

２．発表標題
制御対象の事前情報を利用した出力フィードバック最適制御器の効率的な学習に向けて

３．学会等名
第7回制御部門マルチシンポジウム

４．発表年
2020年

１．発表者名
森田梨紗子，　内山孝憲，　堀豊

２．発表標題
筋力学モデルの不確かさを定量化するためのパラメタ集合同定法

３．学会等名
第7回制御部門マルチシンポジウム

４．発表年
2020年

１．発表者名
小塚太資，堀豊

２．発表標題
分子通信により制御される細胞集団の外乱応答特性の解析

３．学会等名
分子ロボティクス定例研究会

４．発表年
2018年

１．発表者名
Ayaka Wakamei, Yutaka Hori

２．発表標題
A microfluidic actuator for dynamic control of chemical reactions

３．学会等名
SICE Annual Conference（国際学会）

４．発表年
2018年

１．発表者名
Asuka Koshi, Yutaka Hori

２．発表標題
Temperature controlled droplet reactors for parallel tuning of DNA circuits

３．学会等名
Winter q-bio（国際学会）

４．発表年
2019年

１．発表者名
櫻井裕大，堀豊

２．発表標題
不確かさのある化学マスター方程式に対するWorst-case解析

３．学会等名
計測自動制御学会制御部門マルチシンポジウム

４．発表年
2019年

１．発表者名
植村涼良，櫻井裕大，堀豊

２．発表標題
不確かな動的多項式システムに対する解集合の外部近似法

３．学会等名
計測自動制御学会制御部門マルチシンポジウム

４．発表年
2019年

１．発表者名 古志飛，堀豊
２．発表標題 DNA回路の反応場温度を並列最適化するためのドロップレット型リアクタ
３．学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
４．発表年 2019年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

―

６．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関