

機関番号：12608

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20360189

研究課題名 (和文) 遺伝子ネットワークのためのモデリング・解析・制御

研究課題名 (英文) Modeling, Analysis, and Control for Gene networks

研究代表者

井村 順一 (IMURA JUN-ICHI)

東京工業大学・大学院情報理工学研究科・教授

研究者番号：50252474

研究成果の概要 (和文)：

本研究では、研究代表者のこれまでのハイブリッドシステムの解析・制御に関する研究成果に実験的側面からの基礎研究を新たに加えて、緑膿菌感染症の発症抑制を対象にして、遺伝子発現ネットワークのモデリング (近似PWA手法や低次元化法)、大規模なネットワーク系にも対応できる安定性解析、そして制御入力(化学物質投与)設計としての最適制御問題の定式化と効率的な解法について、遺伝子発現ネットワークのための制御理論の基礎を構築した。

研究成果の概要 (英文)：

In this research project, we have developed a basis on the control theory for gene regulatory networks including modeling (PWA approximation, model reduction etc), scale-free stability analysis for large-scale network systems, and the control synthesis such as optimal control problem, based on experimental aspects of the quorum sensing system of the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. as well as our previous works on analysis/control synthesis of hybrid dynamical systems.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2009年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2010年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・制御工学

キーワード：制御理論，遺伝子ネットワーク，ハイブリッドシステム

1. 研究開始当初の背景

システムバイオロジの研究が最近、制御工学分野において脚光を浴びつつある。しかしながら、対象となる数理モデルは非線形で複雑であるため、パラメータ感度 (ロバスト性) 解析や安定性解析などに限られている。また、シミュレーション分野においても、各パラメータ値を変えた場合のシミュレーション結果により結論を予測しているにすぎないの

が現状である。

一方、研究代表者は、萌芽研究 (H18-19) において、世界に先駆けて、遺伝子発現ネットワークにおいて、どのような状態 (例えば、たんぱく質の濃度など) であれば、各状態を望みの状態にすることが可能な制御入力 (言い換えると、化学物質の投与方法) が存在するか? という、遺伝子発現ネットワークに対する可制御性問題を定式化し、研究代表者ら

が長年研究してきたハイブリッドシステムの制御論の研究成果を用いて、その近似解法を与えてきた。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者らのこれまでの研究成果に緑膿菌感染症の発症抑制を対象にした実験的な基礎研究を加えることで、遺伝子発現ネットワークのモデリングから、解析、そして制御入力(化学物質投与)設計までの一連の基礎理論「遺伝子発現ネットワークのための制御理論の基礎」を構築することを目指す。

具体的には、

- (1) 遺伝子発現ネットワークのモデル化法の開発 (実験データからの数理モデル導出, PWA 近似モデルの導出)
- (2) 大規模ネットワーク系に適用可能な解析手法の開発(非線形特有の安定性などに対する解析手法の開発)
- (3) 遺伝子発現ネットワークのための最適制御問題の定式化およびその効率的解法の提案 (遺伝子発現ネットワークに適した最適制御問題の定式化とその効率的な解法の提案)

の3つに分けられる。

3. 研究の方法

東工大はモデリングと制御理論を、宇都宮大は緑膿菌の実験を中心にして、2チーム体制で行った。

まずは、宇都宮大側での実験データをもとに、東工大側で緑膿菌の非線形数理モデルの導出を行なう。また、非線形数理モデルをPWA近似するための理論を構築し、実験データより得られた数理モデルの近似PWAモデルを導出し、その妥当性を検討する。

つぎに、遺伝子発現ネットワーク特有(入力部、環境)の事項に注目して有限時間最適制御問題を定式化する。この最適制御問題の解法の効率化についても理論的に検討する。シミュレーション結果をもとに実験データの取得から再検討をする。この間、宇都宮大側では、今回の制御に適した薬剤を探索したり、緑膿菌における時系列投薬による入出力データという視点での実験方法についても検討する。

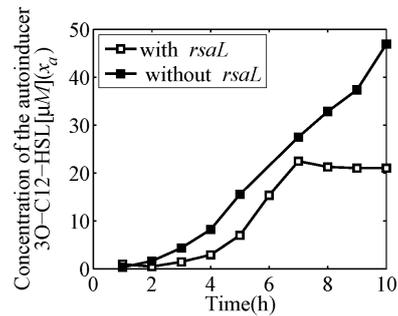
以上を繰り返し行うことで、制御理論の基礎を構築する。

4. 研究成果

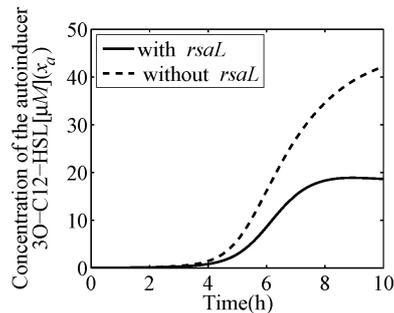
- (1) 実験データに基づく緑膿菌の数理モデルの導出:

緑膿菌の遺伝子発現ネットワークの中でクォラムセンシング機構の基本となるネットワーク構造に着目することとし、*lasR*, *rsaL*, *lasI* の3遺伝子のみから成る遺伝子ネ

ットワークにおける AHL 生産の経時変化の実験データをもとに、対応する非線形数理モデルを制御理論的な視点から構築した。



実験データ



数理モデルによる振る舞い

検証には *rsaL* が作用しない場合の実験データを用いて、構築した非線形数理モデルの妥当性を検討した。

上図が実験データでの AHL 濃度の振る舞い、下図が構築した数理モデルでの AHL 濃度の振る舞いを示す。定性的に良く似た応答が得られ、得られた非線形数理モデルの妥当性を確認した。

- (2) 数理モデルの近似方法の開発

一般の非線形系をルバーク積分的な考え方で区分的アファインシステム (Piecewise Affine Systems PWA systems) で近似する手法を提案した。これにより、指定した精度で非線形ダイナミクスを PWA 近似する、系統だった手法を構築した。また、大規模ネットワーク系に対応するための基礎理論として、ある種のスケール変換や座標変換を用いて、大規模ネットワーク系の状態変数の次元を低減する手法を提案した。これらの結果をもとに、(1)で得られた非線形数理モデルから 23 モードの PWA 近似モデルを導出した。

- (3) 大規模ネットワーク系の安定性解析

複数の PWA サブシステムがネットワーク結合した大規模ネットワーク系の安定性解析として、Y-振動と準受動性の概念に基づいて、安定性の判別条件をシステムの次元に依存せず、また、モード数の大きな系でも適切

に注目するモードを選択することによってより少ない組み合わせで判定できる方法を提案した。

双安定である緑膿菌の遺伝子ネットワークに代表される、多安定性を解析するための手法を、非一様でない平衡パターンを不確かさとして扱うことでロバスト安定性解析に帰着し、十分条件ではあるが、たいへん効率よくシステムの安定性の解析などができる手法を提案した。

(4) PWA システムのモデル予測制御の開発

最適制御のよりアドバンスな制御手法としてリアルタイム最適制御であるモデル予測制御がある。PWA システムに対するモデル予測制御入力を求めるには多大な計算量を要するため、いかに効率よく近似して解を得るかが課題となっている。そこでこうした計算量の低減のために、入力ブロッキングという入力拘束手法に着目した。この手法はこれまで実用的には良く使われているが、理論がほとんどない。本研究では、この入力ブロッキングに関する理論の構築を行った。具体的には、入力ブロッキングによる拘束条件を満たす解の存在性、すなわち可解性の領域を効率よく計算量するアルゴリズムも開発した。

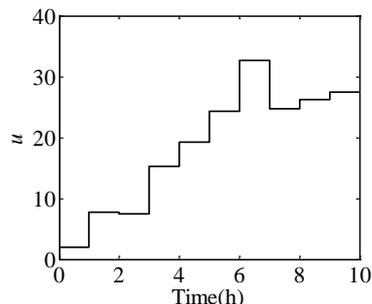
(5) 緑膿菌発症抑制のための最適制御

(1) で得られた非線形数理モデルを (2) で PWA 近似したモデルに対して、緑膿菌発症抑制のための有限時間区間最適制御問題を定式化した。それを (4) のブロッキング手法を組み合わせ、最終的に 5 次元 23 モードの PWA システムに対して、10 ステップの最適制御問題を解いた。そのシミュレーション結果を下記の図に示す。

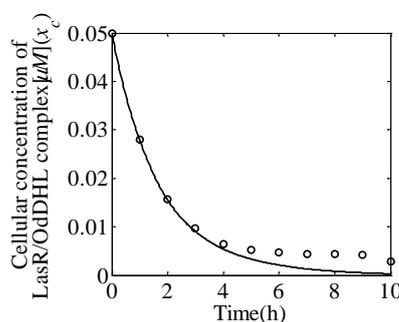
制御入力は AHL 濃度変化を制御するものを想定している。次第に投与量を増やす方法により、効果的に（全投薬量を最小化して）、複合体の濃度を低減化している。なお、投薬量が 6 ステップ目で急激に増えており、不自然に見えるが、投薬による AHL 低減の効果は、AHL の濃度自体にも影響しており、かつ環境としての緑膿菌の菌体数の急激な増加が 6 ステップ前後に見られるため、これにより AHL 低減効果を滑らかに増加するために最も効果的な入力として得られたのではないかと考えている。今回の入力の設定のもとでは、菌体数、AHL 濃度が投薬量の最小化という意味での最適な制御入力の効果に大きく影響することがわかった。

また、緑膿菌の遺伝子ネットワーク制御に効果的な薬剤を探索するため、緑膿菌のバイオフィーム形成能を指標として様々な薬剤を用いたスクリーニングを行なった。その結果、ある種のアシル化シクロペンチルアミド

誘導体の投与によりバイオフィーム形成量が低下することが明らかになった。本薬剤を用いることにより実験レベルでの検証が可能となった。



最適制御入力時間応答



最適制御入力のもとでの複合体の濃度変化

(6) まとめ

本研究では、緑膿菌のクォーラムセンシング機構の遺伝子発現ネットワークを例にして、ハイブリッドシステムの制御理論に実験研究の視点も加えて、遺伝子発現ネットワークを制御するためのモデリング手法と解析手法、そして遺伝子ネットワークのための最適制御手法を開発した。

残された課題としては、入出力データに基づく、一般的な遺伝子ネットワークに対するモデリング理論の構築、大規模な遺伝子発現ネットワークに対する最適制御のリアルタイム化などが挙げられる。また、今回は緑膿菌のクォーラムセンシング機構の基本部分にのみ注目してモデル化を行ったが、全体系としての発症メカニズムの詳細な解明とその数理モデリングの研究は重要である。また、そのためには、遺伝子発現ネットワークの制御の側面だけでなく、(リアルタイム)センシングにおける様々な研究も不可欠であると考えられる。

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 13 件)

- ① J. Imura, K. Kashima, M. Kusano, T. Ikeda, and T. Morohoshi, Piecewise affine systems approach to control of biological networks, *Philosophical Transactions A*, 368-1930, 4977/4993, 2010 (査読有)
- ② K. Kashima and J. Imura, Local Stability Analysis Of Heterogeneous Equilibrium Patterns Observed In Delta-Notch Signalling Interaction, *Journal of the Chinese Institute of Engineers*, 33-3, 347/355, 2010 (査読有)
- ③ 石崎孝幸, 加嶋健司, 井村順一, スケール変換を介した連続極限解析による大規模カスケードシステムの低次元化, 計測自動制御学会論文集, 46-10, 615/622, 2010(査読有)
- ④ T. Morohoshi, K. Fukamachi, M. Kato, N. Kato, and T. Ikeda, Regulation of the violacein biosynthetic gene cluster by acylhomoserine lactone-mediated quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74, 2116/2119, 2010 (査読有)
- ⑤ W. Z. Wang, T. Morohoshi, M. Ikenoya, N. Someya, and T. Ikeda, AiiM, a novel class of *N*-acylhomoserine lactonase from the leaf-associated bacterium *Microbacterium testaceum*, *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 2524/2530, 2010 (査読有)
- ⑥ S. Azuma, J. Imura, T. Sugie, Lebesgue piecewise affine approximation of nonlinear systems, *Nonlinear Analysis: Hybrid Systems*, 4-1, 92/102, 2010 (査読有)
- ⑦ R. Gondhalekar, J. Imura, and K. Kashima, Controlled invariant feasibility - A general approach to enforcing strong feasibility in MPC applied to move-blocking, *Automatica*, 45-12, 2869-2875, 2009 (査読有)
- ⑧ T. Morohoshi, N. Someya, T. Ikeda, Novel *N*-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from the leaf surface of *Solanum tuberosum* and their quorum-quenching properties, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 73, 2124/2127 2009 (査読有)
- ⑨ T. Morohoshi, Y. Yokoyama, M. Ouchi, N. Kato, T. Ikeda, Motility and the expression of the flagellin protein FliC are negatively regulated by quorum sensing in *Edwardsiella tarda*, *J. Biosci. Bioeng.*, 108, 314/318, 2009 (査読有)
- [学会発表] (計11件)
- ① T. Morohoshi, T. Shiono, K. Takidouchi, N. Kato, and T. Ikeda, Inhibition of the pathogenicity of *Serratia marcescens* by the synthetic analog of quorum-sensing signal molecule, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), 2010年12月18日, Honolulu, USA
- ② 牟田裕一郎, 石崎孝幸, 加嶋健司, 井村順一, 状態集約化に基づき特異摂動近似された動的ネットワークシステムの特性解析, 第39回制御理論シンポジウム, 2010年9月29日, 大阪
- ③ T. Ikeda, S. Ito, T. Morohoshi, and N. Kato, Control methods of quorum sensing in gram-negative bacteria using cyclodextrins, 2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering, 2010年7月24日, Beijing, China
- ④ K. Kashima, Kawamura, and J. Imura, Oscillation Analysis of Linearly Coupled PWA Systems, *Proceedings of the 13th ACM International Conference on Hybrid Systems: Computation and Control*, 2010年4月14日, Stockholm, Sweden
- ⑤ T. Ikeda, W. Z. Wang, T. Sato, S. Ito, N. Kato, T. Morohoshi, Inhibition of quorum sensing in gram-negative bacteria using AHL analogues and modified cyclodextrins, *Asia Pacific Biochemical Engineering Conference*, 2009年11月24日-28日, 神戸.
- ⑥ R. Gondhalekar, J. Imura, and K. Kashima, Rigorous determination of maximum controlled invariant feasible sets, *European Control Conference*, 2009年8月23日-26日, ブタペスト, ハンガリ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井村 順一 (Imura Jun-ichi)
東京工業大学・大学院情報理工学研究科・
教授
研究者番号：50252474

(2) 研究分担者

池田 宰 (Ikeda Tsukasa)
宇都宮大学・工学研究科・教授
研究者番号：40151295

(3) 連携研究者

加嶋 健司 (Kashima Kenji)
東京工業大学・大学院情報理工学研究科・
助教
研究者番号：60401551

(4) 連携研究者

諸星 知広 (Morohoshi Tomohiro)
宇都宮大学・工学研究科・助教
研究者番号：90361360