

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2011～2015

課題番号：23119009

研究課題名（和文）多要素人工遺伝子回路のデザインオートメーション

研究課題名（英文）Design automation of multi-element gene circuits

研究代表者

伊庭 斉志（Iba, Hitoshi）

東京大学・情報理工学（系）研究科・教授

研究者番号：40302773

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 31,800,000円

研究成果の概要（和文）：本計画研究では、進化計算を活用してデータベースに格納された遺伝子部品等の検索を行い、それらを組み合わせて人工遺伝子回路を自動設計する技術を開発することを目的とした。さらに、人工遺伝子回路を設計するための実験計画を立案する技術の構築を目指した。そこで本研究では構成モジュールの特性の違いや周囲の温度などといった環境変化に対して頑健な遺伝子回路モジュールを合成することを試みた。また連携研究者の萩谷らは、MediaWikiをベースとして、合成生物学実験を計画・管理・運営し、実験結果を記録・検索するためのデータベース・フレームワークを開発した。

研究成果の概要（英文）：The design of genetic networks has been studied for implementing desired biological systems, and in particular, some researchers have proposed automatic design methods using optimization techniques. However, it is difficult to implement genetic networks designed by previous methods due to overly simplified model descriptions whose parameters are infeasible in the real world. Additionally, the methods do not ensure robustness against parameter perturbation. In this project, we have proposed an effective design method and a fitness function evaluating robustness to create genetic networks which can be implemented experimentally. Further, we suggest the knowledge about robust network structures from results of optimization.

研究分野：進化計算

キーワード：遺伝子ネットワーク 進化計算 DNAツールボックス ラボラトリーオートメーション 遺伝的アルゴリズム 遺伝的プログラミング 人工遺伝子回路

1. 研究開始当初の背景

近年、複数の生体分子を組み合わせて有用な反応系を創り、その過程で生命システムを理解しようとする、合成生物学の試みが盛んに行われている。しかし、現時点では極めて小規模な反応系の構築に留まっている。反応系の大規模・複雑化を阻む要因としては、(1) 反応系の設計から検証実験までが人手による試行錯誤により行われている点、および(2) 実験データを含む各種データが十分な粒度と信頼性をもって公開・共有されていないために、複数の研究者が構築した反応系を組み合わせることが困難な点が挙げられる。

ウェブ技術を活用して科学研究の促進を図る試みはオープンサイエンスと呼ばれており、合成生物学の学生コンテストであるiGEM(The international Genetically Engineered Machine competition)でもその手法が適用されている。iGEMでは、各研究チームがDNAや大腸菌を利用して新規の反応系を構築するが、それらの反応系はウェブ上のデータベースに登録することが義務づけられている(http://partsregistry.org/Main_Page)。そのため、回を重ねるごとにデータベースが充実していき、より大規模・複雑な反応系を創るための部品が増えていくことになる。

しかしながら、データベースに蓄積されているデータの粒度や信頼性が一律でないという理由から、データが十分に活用されていない状況が明らかになっている。この原因としては、ウェブ上への情報の整備・公開をほぼ全て人的作業に頼っているということが挙げられる。また、大規模・複雑な反応系を構築するためには、上述のようにして構築された巨大なデータベースに格納された遺伝子部品等の検索を効率よく行い、それらを適切に組み合わせることが必要である。さらに、少数の実験結果から最適な組み合わせを求めるには、発見科学的アプローチが有効であると考えられる。

以上に加えて、目標の反応系を構築するためには、既存のリソースを効果的に用いる実験計画を立案しなければならない。最終的には、実験の省力化のため、自動実験装置との組み合わせによるラボオートメーションが

重要と考えられる。このような概念はまだ開発途上であり、研究例が希少でありそれらを組み合わせ発展させ、合成生物学に適応した研究例はほとんどない。

2. 研究の目的

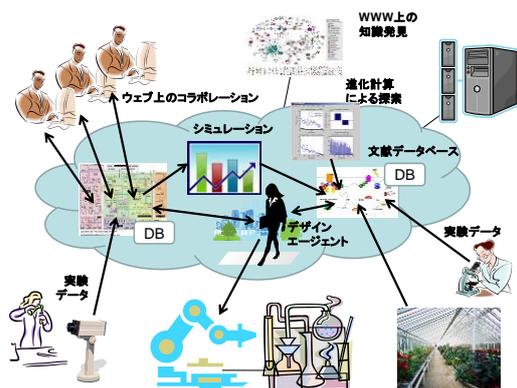
本計画研究では、上記の問題を解決し得る情報基盤システムの構築を目的とする。特に、多くの遺伝子が複雑に関連し合う多要素人工遺伝子回路を設計するための情報基盤システムの構築を目指す。具体的には、(1) 実験データから各種解析データを自動生成するラボラトリオートメーション(ラボオートメーション)技術の開発、(2) 実験データや解析データのデータベース化を支援するとともに、ネットワーク上でのコラボレーションを促進するウェブ環境の整備、(3) 進化計算を活用してデータベースに格納された遺伝子部品等の検索を行い、それらを組み合わせ人工遺伝子回路を自動設計する技術、設計した人工遺伝子回路を構築するための実験計画を立案する技術を開発する。これらの技術により、実験系研究班の研究活動を促進する。

3. 研究の方法

本研究では、生体分子ネットワークをより深く理解しかつ利用するために、(1)人工遺伝子回路や人工代謝経路の探索・設計を行う情報科学、(2)in vitro で回路・経路構築を行う工学、および(3)細胞内(in vivo)へ回路・経路を導入する分子生物学の技術を結集し、かつ有機的に連携することで、世界に先駆けた合成生物学を展開するための技術基盤を構築することを目的とする。

人工遺伝子回路を設計し、細胞内に導入し、そして細胞応答を解析するためには、いくつかの関門をクリアしなければならない。最大の問題点は、①理論やシミュレーションで得た予想通りに、人工遺伝子回路が無細胞系で挙動しない(ドライ系とウェット系との結果のギャップ)、②人工遺伝子回路が無細胞での挙動通りに細胞内では挙動しない(無細胞系と細胞内(in vivo)との結果のギャップ)ということである。本計画研究は、それらのギャップを埋めるために、タンパク質や核酸などの生体分子の改良を行う際に有用な情報基盤技術の構築を目指す。

そこで、まず各種の実験データファイルから自動的に実験データを抽出し、データベースへの保存を行う機能を実装する。次に、山村班が開発する高度なシミュレーション技術や解析プログラムを基盤システム上で実行する機能を実装することにより、実験データファイルのアップロード→実験データの抽出・データベースへの保存→各種シミュレーションやデータ解析の実行→結果のデータベースへの保存、という一連の作業を自動実行するシステムを構築する。さらに、進化計算という人工知能の手法に基づいて、デー



データベースに格納された遺伝子部品等を検索し、それらを組み合わせて新規の反応系とその構築手順を設計するプログラム（デザイナーエージェント）の開発を行う。全体として、人工遺伝子回路のデザインオートメーションを目指し、各種のツールをエージェントとしてウェブ環境上で容易に利用可能にする。構築した基盤システムは、フリーソフトウェアとして一般に公開する。

従来の化学・生物実験を伴う研究をオープンサイエンスで促進していく試みは、いずれも散発的なものである。オープンサイエンスを指向した統合的な基盤システムを構築することができれば、本領域から芽生えた研究活動を促進するツールとして利用し続けていくことが可能である。さらに、構築した情報基盤システムをフリーソフトウェアとして公開することにより、実験を伴う研究活動を促進するための一般的な方法論を提示することになる。これは、従来行われてきた、人間による試行錯誤に基づいた実験系研究の在り方に対して、根本から変革を迫るものである。

合成生物学において、人工遺伝子回路や人工生体分子ネットワークの効率的な設計手法を確立するためには、ウェット実験班と協力して実際的な助言を仰ぎながらアルゴリズムを開発する必要があることを痛感した。そのため、伊庭班では、学生やポスドクを積極的に実験班に派遣し、可能な限り実習生や技術指導の制度を利用して緊密な研究協力を図れるようにした。具体的には以下の項目を実施した。

- (1) Rondelez 班に対して、複数の博士課程の学生を実習生として派遣し、その後本計画研究で採用したポスドクを常駐させて共同研究を遂行した。さらに定期的に勉強会や討論会を共同で開催することで、ウェット系とドライ系の相互理解を進めることができた。一部の博士課程の学生やポスドクは、Rondelez 班における実際のウェット実験に参画することで、ドライ系が設計した遺伝子回路を実際にウェット実装することの困難さ・問題点を理解することができた。この困難さをドライ系の設計手法により改善することが重要な研究テーマの1つとなった。
- (2) 花井班には、卒論生および修士課程の学生を派遣し、定期的に遠隔会議を行って共同研究を遂行した。またウェット実験の内容を把握することで、ウェット環境に特有な構成モジュールの特性の違いや周囲の温度などの変化に対する頑健性について理解を深めることができた。これに基づいて遺伝子回路を設計し、実際にウェット実験を行って検証することを行った。
- (3) 柘植班との共同研究では、定期的に研究成果の進捗状況を報告・議論する機会を設けた。その結果、人工的に構築したオ

ペロンを持つ大腸菌と野生型の大腸菌の特徴を把握することができた。さらに、機械学習のためには学習データの量が不足しており追加実験の必要性を相互で認識し、提案したオペロン順序に基づいて実際にウェット実験を複数回行ってフィードバックを得ることができた。このようにして、オペロンの遺伝子連結順序を決定する際の重要な手がかりに着目することが可能になった。

以上のような連携の結果、国際的に権威のある論文誌や学会において共同研究を発表できるまでに至っている。

4. 研究成果

本研究計画の成果として、Rondelez 班と共同して、DNA ツールボックスを基にした遺伝子ネットワークの進化的合成手法 ERNe を構築した。DNA ツールボックスは、任意の遺伝子ネットワークをつないで構成できる DNA ベースの触媒活性化、または抑制化反応の遺伝子セットである。ERNe は ANN（人工ニューラルネットワーク）と化学反応ネットワークの類似性に着目した方法であり、実際的な生化学システムの探索に成功している。具体的には、倒立振子（振り子を逆立ちさせた不安定な構造物）の制御や AND/NAND/OR などの単純な論理回路の合成に成功した。さらに、より困難な探索問題として、特定の機能（サイン波、方形、鋸歯状の振動）を実現する遺伝子回路の進化的合成を試みた。図 1 は方形振動の結果を示す。ほとんどの実行で、3つの抑制が一緒にリンクした自己活性化配列に収束した。図にはトポロジーに対する変化のみが表示されているが、進化の途中には多くのパラメータが最適化されている。得られた構造には、二つのテンプレートスイッチ突然変異が同時に活性化部分に起こっており、構造の発見に伴って成績の大きな向上が見られた。

さらに花井班との共同研究では、数種類の発振回路を進化的に探索し、ウェット上での実装実験を行って有効性を検証する作業を行った。そのために遺伝子回路のネットワーク構造と反応速度式のモデルでのパラメータ値を二段階に分けて最適化する手法を提案した。またウェット実験での実現可能性を見据えて、この最適化において遺伝子ネットワークの発振特性だけでなくその頑強性も評価した。具体的には、最適化したパラメータ値に変動を加えたときの遺伝子ネットワークの出力を評価することで頑強性を調べた。提案手法による探索では、パラメータ変動に対してより頑強な遺伝子回路を発見することに成功した。

また、柘植班との共同研究により、人工解糖系オペロンの構築のための機械学習（C5.0、ランダム・フォレスト、クラシファイア・システム、マルチレイヤー・パーセプションの合議制）による最適化を試みた。より詳細に

は、解糖系遺伝子のうちの 10 個を取り上げ、それらの順序による大腸菌の増殖速度を機械学習によって解析し、増殖速度の大きいオペロンを自動構築することに成功した。

連携研究者の萩谷らは、MediaWiki をベースとして、合成生物学実験を計画・管理・運営し、実験結果を記録・検索するためのデータベース・フレームワークを開発した。とくに、P1 実験室の承認を受けて学術支援専門職員を雇用して、フレームワークを開発するためのケーススタディとして実際に合成生物学実験を遂行した。これまでに、AND Gate の追試とその改変、AND Gate に基づく delay gate の作成、Riboregulator の追試等の実験をケーススタディとして行った。以上のケーススタディを通して、主な合成生物学実験に対するいくつかの有用なテンプレートを實現している。

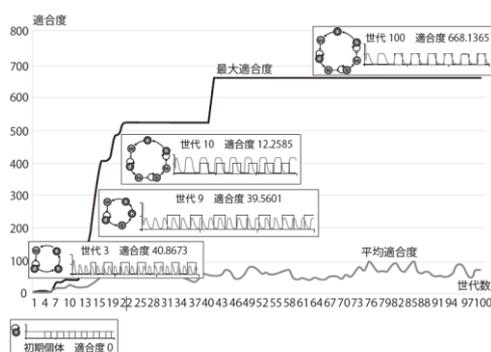


図 1 方形振動子の進化のようす

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

- ① Noman, A., Iba, H.: "ε constrained differential evolution for economic dispatch with valve-point effect", *International Journal of Bio-inspired Computation*, vol. 3, no. 6, pp. 346-357, 2011.
- ② Liu, S., Iba, H.: "A Study on Computational Efficiency and Plasticity in Baldwinian Learning", *Journal of Advanced Computational Intelligence and Intelligent Informatics*, vol. 15, no. 9, pp. 1300-1309, 2011.
- ③ 丹治信, 伊庭斉志: "関係クリーク推定を用いた確率モデル遺伝的プログラミング", *進化計算学会論文誌*, vol. 2, no. 1, pp. 41-52, 2011.
- ④ 渡辺晃生, 伊庭斉志: "対話的パラメータ最適化のための集団探索打ち切り型探索アルゴリズムの提案", *進化計算学会論文誌*, vol. 2, no. 2, pp. 47-62, 2012.
- ⑤ Noman, N., Palafox, L., Iba, H.: "On Model Selection Criteria in Reverse Engineering

Gene Networks Using RNN Model," *Convergence and Hybrid Information Technology, Lecture Notes in Computer Science*, vol. 7425, pp. 155-164, 2012.

⑥ Noman, N., Palafox, L., Iba, H.: "Reconstruction of Gene Regulatory Networks from Gene Expression Data using Decoupled Recurrent Neural Network Model," *Natural Computing and Beyond*, Suzuki, Y. and nakagaki, T. (Eds.), Springer, pp. 93-103, 2012

⑦ Palafox, L, Noman, N., Iba, H.: "Study on the Use of Evolutionary Techniques for Inference in Gene Regulatory Networks," *Natural Computing and Beyond*, Suzuki, Y. and nakagaki, T. (Eds.), Springer, pp. 82-92, 2012.

⑧ Noman, N., Palafox, L., Iba, H.: "Evolving Genetic Networks for Synthetic Biology," vol. 3, no. 2, pp. 93-103, 2013.

⑨ Palafox, L, Noman, N., Iba, H.: "Reverse Engineering of Gene Regulatory Networks Using Dissipative Particle Swarm Optimization," *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, vol. 17, no. 4, pp. 557-587, 2013.

⑩ Noman, N., Palafox, L., Iba, H.: "Inferring Genetic Networks with a Recurrent Neural Network Model Using Differential Evolution," *Springer Handbook of Bio-/Neuro-Informatics*, Kasabov, Nikola, K. (ed.), pp. 355-373, 2013.

⑪ Noman, N., Monjo, T., Moscato, P., Iba, H.: "Evolving Robust Gene Regulatory Networks," *PLoS One*, doi:10.1371/journal.pone.0116258, vol. 10, no. 1, 2015.

⑫ Dinh, H., Noman, N., Iba, H.: "Oscillatory synthetic biological system construction using interactive evolutionary computations," *Journal of Computer Science*, vol. 10, no. 12, pp. 2640-2652, 2015.

⑬ Penga, Y., Hasegawa, Y., Noman, N., Iba, H.: "Temperature compensation via cooperative stability in

⑭ protein degradation, *Physica A*, vol. 431, pp. 109-123, 2015.

⑮ Noman, N., Monjo, T., Moscato, P., Iba, H.: "Evolving Robust Gene Regulatory Networks," *PLoS One*, 2015 Jan 23;10(1), e0116258. doi 10.1371/journal.pone.0116258. eCollection, 2015.

⑯ Dinh, Q. H., Aubert, N., Noman, N., Fujii, T., Rondelez, Y., Iba, H.: "An Effective Method for Evolving Reaction Networks in Synthetic Biochemical Systems," *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, DOI:10.1109/TEVC.2014.23268

[学会発表] (計 24 件)

① Noman, N., Bollegala, D., Iba, H., "Differential evolution with self adaptive local search", The 13th Annual Genetic and Evolutionary Computation Conference, 2011 年 7 月 12-16 日, Dublin, Ireland

② Vatanutanon, J., Noman, N., Iba, H., "Polynomial selection scheme with dynamic parameter estimation in cellular genetic algorithm", 13th Annual Genetic and Evolutionary Computation Conference, 2011 年 7 月 12-16 日 Dublin, Ireland

③ Bollegala, D., Noman, N., Iba, H., "RankDE: learning a ranking function for information retrieval using differential evolution", Proc. of GECCO 2011, pp.1771-1778, 2011 (**GECCO Best paper 受賞**). 2011 年 7 月 12-16 日 Dublin, Ireland

④ Liu, S., Iba, H. "Imitation tendencies of local search schemes in baldwinian evolution", Proceedings of the Genetic and Evolutionary Computation Conference (GECCO2011), pp. 553- 560, 2011. 2011 年 7 月 12-16 日 Dublin, Ireland

⑤ Noman, N., Bollegala, D., Iba, H.: "An adaptive differential evolution algorithm", Proceedings of IEEE Congress on Evolutionary Computation 2011 (CEC2011), pp. 2229- 2236, 2011. 2011 年 6 月 5-8 日, New Orleans, LA, USA

⑥ Noman, N., Iba, H.: "Reconstruction of gene regulatory networks from gene expression data using recurrent neural network model", Proceedings of 6th International Workshop on Natural Computing (IWNC6), 2012. 2012 年 3 月 28-30 日, Tokyo, Japan

⑦ Palafox, L., Iba, H.: "Study on the use of Evolutionary Techniques for inference in Gene Regulatory Networks", Proceedings of 6th International Workshop on Natural Computing (IWNC6), 2012. 2012 年 3 月 28-30 日, Tokyo, Japan

⑧ Palafox, L., Iba, H., "On the use of Population Based Incremental Learning to do Reverse Engineering on Gene Regulatory Networks", IEEE Congress on Evolutionary Computation 2012 (CEC2012),

⑨ 2012 年 06 月 10 日~2012 年 06 月 15 日, Australia, Brisbane

⑩ Sato, H., Hasegawa, Y., Bollegala, D., Iba, H., "Probabilistic model building GP with Belief propagation", IEEE Congress on Evolutionary Computation 2012 (CEC2012),

⑪ 2012 年 06 月 10 日~2012 年 06 月 15 日, Australia, Brisbane

⑫ Palafox, L., Iba, H.: "Gene regulatory network reverse engineering using population based incremental learning and K-means," Proceedings of the Genetic and Evolutionary Computation Conference (GECCO2012), pp. 1423-1424, 2012. 2012 年 7 月 7-11 日, Philadelphia, PA, USA.

⑬ Komiya, K., Noman, N., Iba, H.: "The search for robust topologies of oscillatory gene regulatory networks by evolutionary computation," Proceedings of the Genetic and Evolutionary Computation Conference (GECCO2012), pp. 1419- 1420, 2011. 2012 年 7 月 7-11 日, Philadelphia, PA, USA.

⑭ Noman, N., Palafox, L., Iba, H.: "On Model Selection Criteria in Reverse Engineering Gene Networks Using RNN Model," Proceedings of Convergence and Hybrid Information Technology - 6th International Conference, (ICHIT2012), LNCS vol.7425, pp.155-164, 2012. 2012 年 8 月 23-25 日, Daejeon, Korea.

⑮ Palafox, L., Noman, N., Iba, H., "Extending Population Based Incremental Learning using Dirichlet Processes," Proceedings of IEEE Congress on Evolutionary Computation 2013 (CEC2013), pp.1686-1693, 2013. 2013 年 7 月 20-23 日, Cancun, Mexico.

⑯ Hettiarachchi, D. S., Noman, N., Iba, H., "Messy Genetic Algorithm for evolving mathematical function evaluating variable length gene regulatory networks," Proceedings of IEEE Congress on Evolutionary Computation 2013 (CEC2013), pp.2154-2161, 2013. 2013 年 7 月 20-23 日, Cancun, Mexico.

⑰ Aubert, N., Dinh, Q. H., Hagiya, M., Iba, H., Fujii, T., Bredeche, N., Rondelez, Y., "Evolution of Cheating DNA-based Agents Playing the Game of Rock-Paper-Scissors," Proceedings of the Twelfth European Conference on the Synthesis and Simulation of Living Systems, Advances in Artificial Life (ECAL2013), pp.1143-1150, 2013. 2013 年 9 月 2-6 日, Taormina, Italy.

⑱ Eita, M., Shoukry, A., Iba, H., "Constrained Group Counseling Optimization," Proceedings of Alife' 14, The Fourteenth International Conference On The Synthesis and Simulation Of Living Systems, pp.631-638, 2014. 2014 年 7 月 30 日-8 月 2 日, New York, NY, USA.

⑲ Dinh, H., Iba, H., Rondelez, Y., "Evolutionary construction of dynamic biochemical systems performing mathematical calculations," Proceedings of DNA20 (DNA Computing and Molecular

Programming), 2014. 2014年9月22-25日, Kyoto, JAPAN.

⑳ Noman, N., Iba, H., Pablo, M., “Designing Robust Network Topology with Surrogate Assisted Genetic Algorithm,” Proceedings of The 15th International Conference on Systems Biology (ICSB), 2014. 2014年9月14-18日. Melbourne, Australia

㉑ Peng, Y., Hasegawa, Y., Noman, N., Iba, H., “Nonlinear protein degradation for temperature compensation,” Proceedings of GIW / ISCB-Asia 2014. 2014年12月15-17日, Tokyo, Japan.

㉒ Ivert, A., Aranha, C., Iba, H., “Feature selection and classification using ensembles of genetic programs and within-class and between-class permutations,” Proceedings of IEEE Congress on Evolutionary Computation 2015 (CEC2015), pp.1121-1128, 2013. 2013年5月25-28日, Sendai, Japan.

㉓ Naruse, Y., Hamada, H., Hanai, T., Iba, H., “Evolutionary design of oscillatory genetic networks in silico,” Proceedings of IEEE Congress on Evolutionary Computation 2015 (CEC2015), pp.1596-1603, 2013. 2013年5月25-28日, Sendai, Japan.

㉔ Nobile, M. S., Iba, H., “A double swarm methodology for parameter estimation in oscillating Gene Regulatory Networks,” Proceedings of IEEE Congress on Evolutionary Computation 2015 (CEC2015), pp.2376-2383, 2013. 2013年5月25-28日, Sendai, Japan.

[図書] (計6件)

① Iba, H. and Noman, N.: “New Frontiers in Evolutionary Algorithms: Theory and Applications,” World Scientific Publishing Company, ISBN-10: 1848166818, 2011.

② 伊庭齊志: 人工知能と人工生命の基礎, オーム社, 2013.

③ Iba, H., Agent-Based Modeling and Simulation with Swarm, Chapman and Hall/CRC, ISBN 10-146656234X, 2013.

④ 伊庭齊志: 人工知能の方法—ゲームかWWWまで, コロナ社, 2014.

⑤ 伊庭齊志: 進化計算と深層学習—創発する知能—, オーム社, 2015.

⑥ H. Iba, N. Noman (eds.), Evolutionary Computation in Gene Regulatory Network Research, Wiley, 2016.

[その他]

ホームページ等

<http://www.iba.t.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊庭 齊志 (IBA HITOSHI)

東京大学・大学院情報理工学系研究科・教授

研究者番号: 40302773