

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K06500

研究課題名(和文) DNAレギュレータの制御性能解析とDNA組合せ回路の設計・応用

研究課題名(英文) Control performance analysis of DNA regulator and design and application of DNA combination circuits

研究代表者

中茎 隆 (Nakakuki, Takashi)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・教授

研究者番号：30435664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、DNAレギュレータのレギュレーション問題に関して、Finite-time regulation propertyなる新たな概念を提案した。DNA鎖置換反応機構の特徴と正則変換を利用し、非標準の特異摂動理論の証明を完成させた。構築された理論をDNAレギュレータに適用し、有限時間レギュレーションを理論的に特徴付けることに成功した。また、本研究では、dual-railロジックを用いないXOR回路の設計を行った。特に、DNA回路設計においてミスマッチ塩基対を利用した独創的な設計法を新たに考案した。さらに、分子ロボットのモーション制御に必要なオン・オフスイッチ回路を設計した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体分子反応系という高次元非線形系に対して、制御理論を適用することの有用性や可能性を示すことができた。本研究を通じて、分子ロボット研究に制御理論研究者が参画する一助になれば幸いである。

研究成果の概要(英文)：In this study, a new concept of “finite-time regulation property” has been defined for the regulation problem of DNA regulator. By applying the proposed coordinate transformation along with the properties of DNA strand displacement mechanism to the DNA regulator system, the non-standard singular perturbation theory has been established, which is expected to apply to various kinds of DNA regulators. In addition, a new XOR circuit that does not use the dual-rail method has been successfully designed, where a novel method for determining DNA base sequences by using mismatch base-pairs has been proposed. Furthermore, an on/off switching circuit that is needed for the motion control of a molecular robot has also been developed.

研究分野：制御工学

キーワード：DNAレギュレータ 生体分子反応系 非線形システム 制御理論 特異摂動理論 XOR回路 オン・オフスイッチ回路 DNAコンピューティング

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、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新学術領域研究「感覚と知能を備えた分子ロボットの創成」(H24~28)では、化学とロボット工学を融合することで実現が可能となるプログラム可能な人工分子システムの構築を目指した研究開発が進められた。その意義は、分子レベルの機構で自己組織化と学習・適応を併せ持つ自律ロボットを実現することである。分子ロボットでは、外部刺激に応じてアクチュエータのマクロな運動が調節される仕組みが必要であり、研究代表者は、第1期(H25~26)、第2期(H27~28)公募研究において、分子ロボットの知能中枢となる核酸(DNA)反応をベースとした制御系設計法の構築に取り組んだ。分子ロボットの制御演算回路は、DNA鎖の化学反応系(以後、DNA回路)上に実装される必要があるため、DNA回路が持つ化学反応系特有の演算能力、非線形性、モジュール性を考慮した制御系設計法が求められる。しかし、以下に示す問題により、真に実用的な設計法は得られていない。

(1)演算能力に関して、DNA回路では理想的な減算器の実現が困難であることが知られているが、フィードバック制御系を設計する際には、目標値と現在量の偏差(減算)が必要となる。従って、DNA回路によるレギュレータ(以後、DNAレギュレータ)の設計は難題であり、様々な挑戦が続けられている^[1]。

(2)非線形性に関して、DNA鎖の結合・解離反応に関する微分方程式は、反応速度論に基づいて質量作用の法則で記述され、ポジティブ2次システム(非負システムの1つ)のクラスに属する。線形非負システムとは異なり、ポジティブ2次システムに対する研究は黎明期にあり、過渡特性と定常特性に関する制御理論は未だ整備されていない。

(3)モジュール性に関して、電気・電子回路における「接続」は、DNA回路での「反応」に対応し、回路のモジュール性という点で、遡及性(直列に結合されたDNA回路において、下流の回路が上流の回路の動作に影響を与える性質)とクロストーク(設計者が意図しない回路間のDNA鎖の結合反応)に問題を抱える^[2]。この問題は、組合せ回路の設計・実現において、大きな障壁となっている。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者のこれまでの研究成果を発展させ、次の問題に取り組む。

(1)特異摂動理論を用いてDNAレギュレータの達成条件、制御性能の評価手法を構築する：

過去に研究代表者らはDNAレギュレータの成功的な設計事例を報告した。しかし、レギュレータは、燃料としての役割を持つDNA鎖(以後、燃料DNA)を消費しながら駆動するため、ある有限時間内においてのみレギュレーション(便宜上、有限時間レギュレーションと名付ける)が達成される。一方、有限時間レギュレーションの達成条件(その持続時間も含む)と設計パラメータ(結合・解離定数等、初期DNA鎖濃度)との関係は不明であり、試行錯誤的にパラメータ調整を行う必要がある。有限時間レギュレーション後に収束する定常状態に関しては、ポジティブ2次システムに対するリアプノフ関数を用いて安定性を示すことは可能である。一方で、真に解析すべき対象は、DNAレギュレータの過渡状態において出現する有限時間レギュレーションである。しかし、有限時間レギュレーションの理論的な特徴付けは成されておらず、従って、制御性能と設計パラメータの関係も不明である。課題(1)では、これら設計上の未解決問題に対し、特異摂動理論^[3]を用いた手法を構築し問題解決を図る。

(2)遡及性理論を用いた多段のDNA組合せ回路の設計と実システムへの応用：

DNA組合せ回路の設計法を検討する上で、論理回路の完全系として何を採用するかが重要である。現在、DNAコンピューティング分野においては、完全系として、(AND, OR, NOT)を採用する研究事例が多い。例えば、最も広く利用されている文献[3]の手法においては、Seesawゲートを複数個組み合わせるとAND, ORゲートを合理的に設計する手法が提案されている。この方法論によれば、複雑なDNA組合せ回路も原理的には設計可能となる。しかし、NOTゲートを実現するためにdual-railロジック(論理的High、論理的Lowそれぞれに対して信号線を用意する設計手法)に頼る必要があるため、この点がボトルネックとなり、実際の設計には困難が伴う。課題(2)では、より実用的なDNA組合せ回路の設計法の確立を目指し、dual-railロジックを用いない設計法を構築する。また、論理回路のみならず、多段のDNA組合せ回路としてオン・オフスイッチ回路の研究開発にも取り組む。このオン・オフスイッチ回路は、分子ロボットのアクチュエータのオン・オフを切り替える目的で実用上必要不可欠な回路であるが、オン回路とオフ回路を直列的・並列的に組み合わせた回路構造となるため設計が難しい。

3. 研究の方法

(1)特異摂動理論を用いてDNAレギュレータの達成条件、制御性能の評価手法を構築する：

DNAレギュレータのダイナミクスには、準定常状態と定常状態が存在し、有限時間レギュレーションは、準定常状態において発現する一つの特性と考えられる。このとき、システムを適切な特異摂動形式に変換することができれば、特異摂動理論の枠組みを用いて有限時間レギュレーションを理論的に特徴付けることができるはずである。これまでの研究進捗状況を踏まえ、以下の計画に沿って検討を進める。

DNA レギュレータの低次元化: DNA レギュレータは 48 次元非線形微分方程式で記述されるが、モデルの低次元化を行うことで、理論導出の際に不要な複雑さを低減することができる。

特異摂動形式への変換と特異摂動理論の拡張・適用: DNA 回路を構成する DNA 鎖(状態変数)は、燃料 DNA 鎖のような初期濃度を持つ鎖と初期濃度を持たない鎖に分類される。これらを Slow states、Fast states とし、状態変数の並び替えを行うことで、特異摂動形式に変換する。その上で、特異摂動理論を拡張し、境界層システムの安定性、過渡特性とレギュレーション特性を理論的に関係付ける。

(2) 遡及性理論を用いた多段の DNA 組合せ回路の設計と実システムへの応用:

DNA 鎖置換反応を用いた XOR 回路の開発に取り組む。dual-rail ロジックを用いない XOR ゲートが実現すれば、完全系として(XOR, AND)、(XOR, OR)などの利用が可能となる。以下の手順で研究開発を進める。

DNA 鎖置換反応機構を用いて XOR ゲートの分子反応過程を設計する。

設計した分子反応過程に対して反応速度論に基づいて数値モデリングを行う。

シミュレーション解析を行い、反応速度パラメータの見積りを行う(塩基配列設計が必要)。

DNA 鎖のドメイン構造と塩基配列の設計を行う。

ウェット実験にて動作検証を行う。

所望の結果が得られるまで、手順①～⑤を繰り返し行う。同様に、オン・オフスイッチ回路の開発方法も手順①～⑤に従う。

4. 研究成果

(1) 特異摂動理論を用いて DNA レギュレータの達成条件、制御性能の評価手法を構築する:

本研究では、DNA レギュレータのレギュレーション問題に関して、Finite-time regulation property なる新たな概念を提案した。DNA レギュレータの実態は、DNA 鎖置換反応機構を直列的・並列的に組み合わせで作られる連鎖反応系であり、多種類の DNA 鎖が関わる生体分子反応系である。このような分子反応系に対して、本研究では、初期状態において高濃度で存在する DNA 鎖を燃料 DNA 鎖、それ以外の DNA 鎖を信号 DNA 鎖と定義した。その上で、DNA 分子反応系を特異摂動形式へと変換するための座標変換を考案した(そのような変換が可能であるための十分条件も明らかにした)。一般に、DNA 分子反応系には保存則が存在するため、変換された特異摂動形式は非標準となり、境界層システムは漸近安定とならない。本研究では、DNA 鎖置換反応機構の特徴と正則変換を利用し、非標準の特異摂動理論の証明を完成させた。構築された理論を DNA レギュレータに適用し、有限時間レギュレーションを理論的に特徴付けることに成功した。本研究成果は、制御理論分野において高名な海外誌 Automatica (IF:6.355)に掲載された。

Finite-time regulation property の有用性・汎用性を確認すべく、先行研究で報告されている Biomolecular PI controller^[1]に対して提案手法を適用した。この PI コントローラは、正・負それぞれの濃度を表す DNA 鎖、Catalysis 反応機構、Degradation 反応機構、Annihilation 反応機構を多数組合せた設計を行うため、329 種類の DNA 分子反応と 255 種類の DNA 鎖で構成される系となる。すなわち、その数値モデルは 255 次元非線形微分方程式となる。論文[1]においては、制御対象から出力される DNA 鎖が目標濃度にレギュレーションされる振る舞いをシミュレーションレベルで検証しているが、理論的な妥当性については不明な点が残されていた。そこで、提案手法を適用したところ、Biomolecular PI controller の Finite-time regulation property を理論的に証明することに成功した。本研究成果は、海外誌 Control Theory and Technology (IF:1.92)に掲載された。

以上の成果は、分子反応系という高次元非線形系に対して、制御理論を適用することの有用性や可能性を示すものである。本研究を通じて、分子ロボット研究に制御理論研究者が参画する一助になれば幸いである。

(2) 遡及性理論を用いた多段の DNA 組合せ回路の設計と実システムへの応用:

本研究では、dual-rail ロジックを用いない XOR 回路の設計に成功した。開発における難所は 2 つの入力が論理的 High であるときに、出力が論理的 Low となる反応過程を設計することであった。研究方法に示す手順①～⑤を繰り返しながら設計を改良することで、実験検証を達成した。特に、本研究では、DNA 回路設計において、ミスマッチ塩基対を利用する独創的な設計法を新たに考案した。XOR 回路では、回路内の 2 つのサブ回路間で、仕様上避けることができないクロストークが生じる。クロストークは XOR 回路全体の機能不全を引き起こす一方で、クロストークを解消する修正を塩基配列に施すと、回路出力は XOR が求める真理値表を満たすことができないというジレンマが生じていた。本研究では、通常の DNA 回路設計では用いないグアニンとチミンのミスマッチ塩基対を積極的に活用した設計法を考案した。本研究成果は、海外誌 New Generation Computing (IF:0.833)に掲載された。

また、分子ロボットのアクチュエータのオン・オフを切り替えるために必要不可欠なオン・オフスイッチ回路に関しても、ミスマッチ塩基対を利用することで設計が可能となった。本回路単体の動作は実験レベルでも検証された。本研究成果は、国際会議 SICE2018 (査読付国際会議論

文)で発表された。本論文は指導大学院生との共著であり、第一著者は Finalists of Young Author Award に選出された。

《参考文献》

- [1] B. Yordanov, et al., Computational Design of Nucleic Acid Feedback Control Circuits, *ACS Synt Biol*, 3(8), 600-616, 2014.
- [2] Thachuk et al., Leakless DNA Strand Displacement Systems, *LNCS*, 9211, 133-153, 2015.
- [3] H. Khalil, *Nonlinear Systems (3rd Ed.)*, Prentice Hall, 2001.
- [4] L. Qian, et al., Scaling Up Digital Circuit Computation with DNA Strand Displacement Cascades, 332, 1196-1201, 2011.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Watanabe Keisuke, Nakakuki Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Partical simulation on biomolecular reaction system in contaminating reaction field	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of 18th International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS2018)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Hidaka Taisei, Nakakuki Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Stability analysis of Wnt-ERK cellular signalling by using Nyquist criterion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of 17th International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS2017)	6. 最初と最後の頁 430/433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.23919/ICCAS.2017.8204314	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 Yoshida Yuki, Nakakuki Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 A tool for the design of DNA base sequences for molecular circuits	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of 17th International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS2017)	6. 最初と最後の頁 669/674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.23919/ICCAS.2017.8204313	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 Watanabe Keisuke, Nakakuki Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Biomolecular Switch Circuits for Molecular Robots using a DNA Strand Displacement Mechanism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of SICE Annual Conference (SICE2019)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.23919/SICE.2019.8859901	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 Nakakuki Takashi、Imura Jun-ichi	4. 巻 114
2. 論文標題 Finite-time regulation property of DNA feedback regulator	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Automatica	6. 最初と最後の頁 108826 ~ 108826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.automatica.2020.108826	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 Rong Peng、Nakakuki Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Analysis of finite-time regulation property of biomolecular PI controller	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Control Theory and Technology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11768-020-0017-2	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 Nishijima Katsuhiko、Nakakuki Takashi	4. 巻 38
2. 論文標題 XOR Gate Design Toward a Practical Complete Set for DNA Computing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Generation Computing	6. 最初と最後の頁 285 ~ 301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00354-020-00090-3	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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Yuki Yoshida, Takashi Nakakuki
2. 発表標題 Development of automated mismatch DNA base sequence designer
3. 学会等名 THE 6th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON APPLIED ENGINEERING AND SCIENCES (SAES2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taisei Hidaka, Takashi Nakakuki
2. 発表標題 Stability Analysis of Wnt-ERK signal transduction system by Nyquist stability criterion
3. 学会等名 THE 6th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON APPLIED ENGINEERING AND SCIENCES (SAES2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Peng Rong, Takashi Nakakuki
2. 発表標題 Brief review on the principle implementation of P-Controller by DSD circuits
3. 学会等名 18th International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日高大成, 中荃隆
2. 発表標題 ナイキスト安定判別法を用いたWnt-ERKシグナル伝達系の安定性解析
3. 学会等名 第37回計測自動制御学会九州支部学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西島勝浩, 中荃隆
2. 発表標題 DNA鎖置換反応によるXOR回路の構築
3. 学会等名 計測自動制御学会 システム・情報部門 学術講演会 2017
4. 発表年 2017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
研究協力者	井村 順一 (Imura Jun-ichi)		