T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	未知状況を含む微生物共生系の制御
Title(English)	Control of contingent microbial ecosystem
著者(和文)	西田暁史
Author(English)	Akifumi Nishida
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10870号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山村 雅幸,小長谷 明彦,青西 亨,田川 陽一,瀧ノ上 正浩
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10870号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	知能システム科学　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　工学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	西田暁史	指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	山村雅幸
		指導教員（副）： Academic Supervisor (sub)	

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）

2000 年に始まった合成生物学は、数理モデルをベースとしたデザインと制御を特徴とする生物学研究の新しい運動である。単細胞生物を用いた合成生物学による物質生産系の構築は普及段階に入り、産業レベルの実用技術となってきている。合成生物学的なアプローチの次のターゲットは多細胞生物および多種の細胞群からなる生態系のデザインと制御を視野に入れるまでになっている。本論文は「未知状況を含む微生物共生系の制御」と題し、和文４章からなる。

第一章「微生物共生系制御について」では、未知状況を含む微生物共生系を制御するという目的にいたる背景を述べている。微生物は多様な機能を持って元素循環を担い、人類は古くから物質生産系として微生物を利用してきた。近年では物質生産系の高度化が求められているが、単一種の微生物ができることには限界があり、個々の微生物の負担を減らしつつ機能を発揮する微生物共生系が注目されている。しかし、微生物共生系は微生物個体がゆらぎを持つことに加え、それらが複雑に組み合わさることで共生系の挙動は予測不可能で未知状況を含むものとなっている。本研究ではこのように未知状況を含む微生物共生系を利用するために、これを制御する枠組みを構築した。具体的には、微生物による物質生産系で注目されている光入力を用いたうえで、①共生系制御を想定した制御システム構築と単一種の微生物集団の制御、②微生物多種共生系の入力応答の計測という要素技術に注力した。

第二章「単一種の微生物集団の制御」では、未知状況を含む微生物共生系を制御し物質生産系として有効活用するために、光入力によるフィードバック制御のプロトタイプを構築したことについて述べている。この制御システムの動作試験として、単一種微生物集団の制御実験を行っている。光応答型遺伝子発現システムである Cph8-OmpR システムを持たせた大腸菌集団に対して、赤色光の ON／OFF でそのシステムの出力であるレポータータンパク質 GFP の発現を調節し、GFP 濃度を目標値へ制御している。入力は光強度調節と比べ光減衰の影響が小さい、光パルスの周波数調節を用いたとしている。大腸菌内の GFP 濃度を蛍光強度としてフローサイトメータにより逐次的に計測し、その計測値と数理モデルによる予測値との誤差から、その時点の細胞内状態を非線形カルマンフィルタによって推測し、目標値へ向けた最適な入力系列の計算を修正しながら制御を行っている。フィードバックをしないオープンループ制御においては、実験時間が長くなると数理モデルと現実との差が大きくなることが観察され、フィードバック制御の有用さが単一集団の制御でも現れた。この実験では GFP 濃度のみを出力としてフィードバックしているが、非線形カルマンフィルタや制御手法として用いたモデル予測制御には出力の数に制約がないので、菌叢・転写物・代謝物といった情報もフィードバックに利用できるため、本研究は微生物共生系制御のプロトタイプに成り得る。これにより、望まない状態に遷移してしまう微生物共生系を望ましい状態に制御できるようになり、微生物共生系を扱ったシステムの最適化が期待できる。

第三章「天然の微生物多種共生系の入力応答の計測」では、多種共生系に対して特定の微生物を刺激したときの系全体への影響を評価し、可制御性の目安をつけられるようにしたことについて述べている。天然の微生物多種共生系に対して、特定の光波長を照射することで個別の光合成細菌を活性化し、それによって微生物コミュニティの多様性や菌叢にどのような影響が出たのか評価している。多様性に関して、温度条件および光波長条件によって大きな影響が生じた。温度条件の影響については、この実験では 51-55°C の温度条件であったが、温度が高くなれば種の豊富さが減少するということを確認した。これは微生物共生系にリセットをかけるような大きな摂動を与えたいときには温度を調節すれば良いことを示唆している。また、光波長による影響については、光合成細菌は対応する光条件でその相対量が大きく変わっていることから、その影響が表れていたと考えられる。相対量が 1%以上の主要な化学合成細菌に対しては、光条件によってその相対量に変化が現れているものもいたが、微生物コミュニティのメンバーが変わるということはなく、光合成細菌とあまり相互作用をしていない微生物に対しては影響が限定的であろうことが分かった。したがって、光波長はより精密な制御に適する。一方、微生物マット中のコミュニティメンバー全体に目を向けると、有機物やビタミンを生産し他の従属栄養細菌に利用されていると報告されている酸素発生型光合成細菌 *Thermosynechococcus* の増加条件では多くの種が微増したが、硫化物酸化菌であり他の微生物と電子受容体の競合が予想される酸素非発生型光合成細菌 *Chloroflexus* や *Roseiflexus* の増加条件では多くの種の減少が見られた。さらに、これらの光合成細菌の増減と相関を持つ化学合成細菌も確認された。光合成細菌を個別に活性化することで、その光合成の特性に見合った微生物が影響を受けることが確認でき、光合成細菌を介した微生物共生系制御にこの知見が役立てられる。

第四章「総合討論」では、それぞれの要素技術と目的である「微生物共生系の制御」の間に必要となる技術として共生系の数理モデル化について議論し、次いで光合成細菌を介して微生物共生系を制御する可能性について議論している。そして展望として、トレードオフが発生する微生物共生系の物質生産効率を最適化するのに本研究が役立つことを述べている。すなわち、一般に、光合成細菌が不活性であり続けても活性であり続けても不利益が生じるトレードオフを持つシステムが存在するが、このとき第二章で構築した微生物共生系の制御システムと、第三章の個別の光合成細菌活性化とその活性化が他細菌へ与える影響の評価結果を基に、光合成細菌を介して微生物共生系を制御することで、システムから発生する利益を最大化することが期待できる。

以上を要するに、本論文は合成生物学的な数理モデルをベースとしたシステムデザインと制御を、要素技術としての光制御できる大腸菌、および複数種からなる微生物マットにおける光応答の数理モデル化を素材として基礎的な知見を集めたものとなっている。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	知能システム科学　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of　（　工学　）
学生氏名： Student's Name	西田暁史	指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	山村雅幸
		指導教員（副）： Academic Supervisor(sub)	

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）

Microorganisms have diverse functions and are responsible for biogeochemical cycles, and human beings have used the function for substance production and processing from long ago to date. Because of a limitation of a single kind of microorganism for substance production and processing, microbial ecosystems, in which the burden on individual kinds of microorganisms can be reduced and the microorganism combinations lead to further functions, have attracted attention. However, in addition to the fact that individual microorganisms have fluctuations, combinations of the fluctuated microorganisms make bacterial ecosystems unpredictable and contingent. In this research, in order to utilize the contingent microbial ecosystems, we constructed a framework to control it. Specifically, using optical input in our system that is superior to chemical input in terms of cost, we focused on (1) control of a single kind of microbial population assuming ecosystem control and (2) assay of controllability using light for microbial ecosystem by activating specific light-sensing bacteria. (1) In the control of a single kind of microbial population, we constructed a control system for ecosystem control, and first performed the simple control as system test. As the testbed, *Escherichia coli* including light-sensing Cph8-OmpR system was used and the amount of gene expression product regulated by light was dynamically controlled. Due to contingency of microbial ecosystems, feedback control in which output is periodically measured and reflects on current state is important to correspond to unpredictable situation. So, we constructed a control system by combining model predictive control and nonlinear Kalman filter. As a result, we succeeded in controlling the protein concentration output of the Cph8-OmpR system to the dynamic target value. Since the control system has been constructed, (2) we next assayed the controllability by irradiating microbial ecosystem. This is an experiment that evaluated how many microorganisms are affected by an activated phototroph in species-rich natural environment. Targeting microbial mats in hot spring which are purely microbial ecosystems, we activated three major photosynthetic bacteria separately by irradiating the mats with specific light wavelength. From the results of the 16S rRNA gene analysis, we confirmed each photosynthetic bacterium grew individually and the correlation network between the photosynthetic bacteria and the others. The results tell us what kind of effect each photosynthetic bacterium has. The technologies and findings will be useful to control microbial ecosystems via photosynthetic/light-sensing bacteria.

備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).