

УДК: 577.2.01: 519.876.5: 004.942

«Электронная клетка»: проблемы и перспективы

Акбердин И.Р.^{*1}, Казанцев Ф.В.¹, Ермак Т.В.³, Тимонов В.С.^{2,3},
Хлебодарова Т.М.¹, Лихошвай В.А.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт цитологии и генетики, Сибирское отделение Российской академии наук, Новосибирск, 630090, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090, Россия

³ Сибирский государственный университет телекоммуникаций и информатики, Новосибирск, 630102, Россия

Аннотация. В статье приведен обзор исследований по созданию «электронной клетки» - информационно-компьютерного ресурса, позволяющего моделировать полный метаболизм клетки с учетом процессов генетической регуляции и механизмов клеточного роста и деления; освящены основные проблемы для ее создания и существующие подходы к ее решению, в том числе, разработанные и развиваемые в Институте цитологии и генетики СО РАН.

Ключевые слова: электронная клетка, элементарная подсистема, моделирование.

ВВЕДЕНИЕ

С начала 50–60-х годов двадцатого столетия, после открытия структуры ДНК [1], как основного носителя генетической информации в живых системах, и фундаментальных принципов регуляции экспрессии генов [2], началось интенсивное изучение законов функционирования молекулярно-генетических систем. Открытие структуры ДНК послужило толчком для развития методов молекулярной биологии, направленных на выявление генов и функций кодируемых ими белков. Вплоть до создания высокопроизводительных экспериментальных подходов (конец 90-х годов 20-го столетия – начало 21 века), в силу существующих возможностей, любая живая система рассматривалась как набор элементарных компонентов, которые исследовались независимо от остальных. В научной литературе такой подход позиционируется как редукционистский, в противоположность системному (интегративному) подходу (рис. 1), однако широко используется и в настоящее время. Системный подход получил совершенно новые возможности с появлением современных экспериментальных технологий, компьютерных систем, предназначенных для анализа огромного массива генерируемых экспериментальных данных, и методов высокопроизводительных вычислений [3]. Появилась возможность реконструкции на качественном уровне молекулярно-генетических систем, обеспечивающих функционирование, как отдельных клеток, так и тканей, органов и организмов в целом в условиях гомеостаза, стрессовых ответов на факторы окружающей среды или в ходе индивидуального развития организмов. В результате, изменилась парадигма исследования живой системы, как единого целого [4].

Однако, ни один, даже самый современный экспериментальный подход сам по себе не может дать истинного представления об изучаемой биологической системе в силу

*akberdin@bionet.nsc.ru

сложности ее организации, особенностей иерархии и взаимной подчиненности структурно-функциональных единиц различных ее уровней: молекулярного, клеточного, тканевого и др.

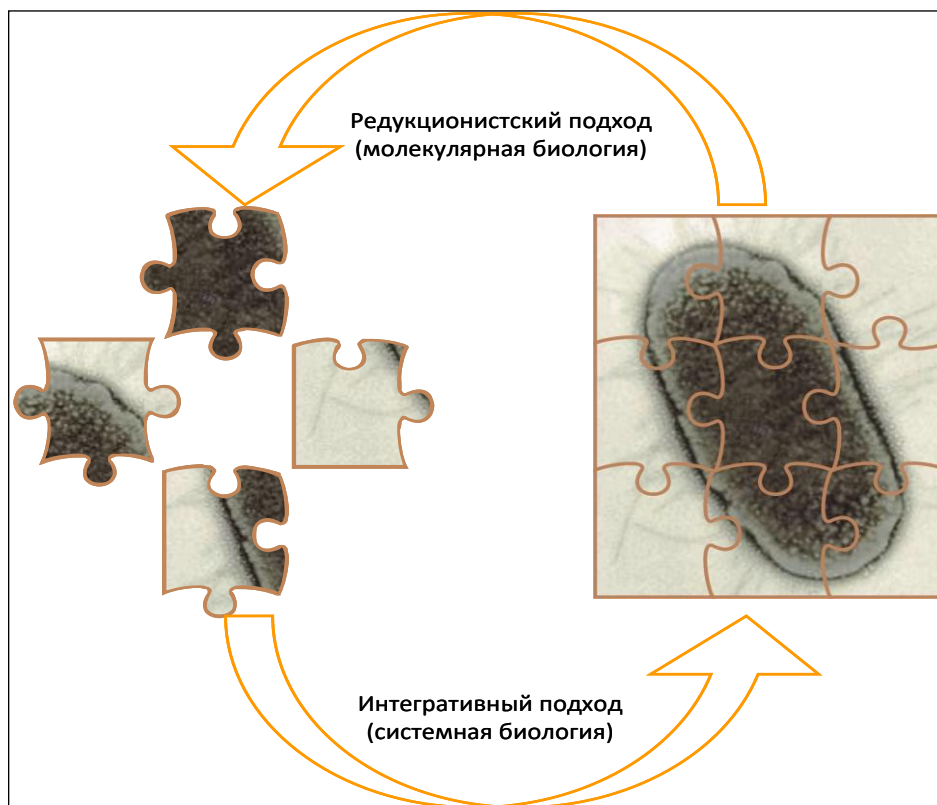


Рис. 1. Два противоположных и взаимодополняющих подхода в исследовании живых систем в современной биологии: редукционистский и интегративный. Первый направлен на детальное исследование отдельных компонентов живой системы, второй позволяет исследовать живой объект, например, клетку, как единое целое – совокупность одновременно функционирующих ее компонентов. Фотография *E. coli* взята с сайта факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ (http://kodomo.cmm.msu.ru/~wave/page_coli.html).

Живые системы, обладая сложной молекулярно-генетической, субклеточной, клеточной и т.д. организацией, являются в то же время динамическими, иерархически организованными и пространственно распределенными открытыми (диссипативными) объектами. В их функционировании огромную роль играют разномасштабные процессы, характерные времена протекания которых могут отличаться на многие порядки. Поэтому экспериментально, на количественном уровне, исследовать причинно-следственные связи между генетическим уровнем организации и динамическими, фенотипическими и другими характеристиками биологических систем крайне сложно, а подчас, практически невозможно.

В этой связи важность теоретических методов исследования функционирования живых систем переоценить трудно. В настоящее время одним из основных «инструментов» системной биологии является метод математического моделирования [5, 6]. Математические модели позволяют естественным образом объединять в рамках единой концептуальной схемы экспериментальные данные, касающиеся закономерностей функционирования биологических систем на всех уровнях их организации, начиная с молекулярно-клеточного и заканчивая популяционным и экосистемным уровнями. При этом возникает возможность сопоставления разномасштабных экспериментальных данных, анализа причинно-следственных связей между молекулярной структурой, динамикой и фенотипическими характеристиками

живых систем. Появились возможности разработки компьютерных систем для проведения экспериментов *in silico* и использования результатов теоретического анализа для планирования направленных экспериментов в области молекулярно-генетической инженерии. Знаменитое изречение выдающегося ученого-физика, лауреата Нобелевской премии Ричарда Фейнмана: «Я не понимаю того, чего не могу воссоздать» – в точности отражает необходимость использования методов математического моделирования для анализа и понимания законов функционирования живых систем.

В свете существующих тенденций развития экспериментальных и теоретических подходов в системной биологии идея создания виртуальной «электронной клетки» не кажется не выполнимой. После того, как были обнаружены организмы с исключительно малым размером генома и появились модели «минимальной» клетки [7, 8], в том числе и на основе более сложных организмов [9], идея создания полномасштабной «электронной клетки» начала воплощаться в жизнь.

В настоящей работе мы рассматриваем современные достижения в разработке портретной математической модели функционирования живой клетки *in silico*, детально описывающей процессы внутриклеточного метаболизма и его генетической регуляции; существующие экспериментальные и теоретические проблемы при реконструкции и анализе модели «электронной клетки», а также приводим примеры разрабатываемых подходов и технологий для решения этих проблем.

1. МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Исторически сложилось так, что *Escherichia coli* является одним из наиболее исследованных организмов в плане структурно-функциональной организации генома и механизмов фундаментальных клеточных процессов [10, 11]. Поэтому не удивительно, что, несмотря на сложность этого организма, целый ряд моделей бактериальной клетки были разработаны именно для *E. coli*. Начиная с конца 60-х годов прошлого столетия, появились первые феноменологические модели роста и деления клетки *E. coli* [12, 13], одна из которых до сих пор успешно используется для симуляции клеточного цикла [14, 15].

Однако переход от феноменологического уровня моделирования индивидуальной клетки к молекулярно-генетическому уровню требует конкретных знаний о механизмах регуляции клеточных процессов. К сожалению, до сих пор даже у *E. coli* для трети генов неизвестны механизмы их регуляции и/или функции кодируемых ими белков [10].

В условиях существующего недостатка знаний о механизмах регуляции клеточных процессов, развитие моделей индивидуальной клетки шло, в основном, в двух направлениях. Первое направление связано с моделированием метаболизма клеток на уровне потоков метаболитов, так называемое стехиометрическое моделирование, для которого не важны подробности механизмов внутриклеточных процессов [16–20 и др.].

Одними из первых потоковые модели полного метаболизма клетки *E. coli* с применением методов линейного программирования были разработаны в лаборатории Палссона [21, 22]. Дальнейшее развитие этого подхода связано с привлечением дополнительных методов и созданием гибридных моделей, сочетающих различные подходы [23, 24 и др.]. Модели этого направления широко используются в биотехнологических исследованиях для предсказания уровня биосинтеза целевых продуктов и оптимизации условий роста клеток в различных условиях и на разных субстратах [18, 25, 26 и др.].

Второе направление связано с разработкой модели «минимальной клетки», в которой клеточные процессы контролируются минимально необходимым числом

генов. Пионером в этой области моделирования является Майкл Шулер, который ещё в 1979 году опубликовал модель роста «минимальной» клетки *E. coli* с учетом механизмов репликации ДНК, известных на тот период времени, и процессов клеточного деления [27]. Многолетние исследования группы Шулера в этом направлении [28–31] привели к созданию математической модели «минимальной» клетки *E. coli*, содержащей 241 белок-кодирующий ген, необходимых ей для поддержания устойчивого роста и деления [9].

После того, как были обнаружены организмы с геномами в 5–10 меньше, чем у *E. coli*, к созданию «минимальной» клетки подключились и другие группы исследователей. Так, на основе генома *Mycoplasma genitalium*, полная последовательность которого составляет всего 580 kb [32], в лаборатории университета Кейо, возглавляемой Масару Томита, была впервые разработана нелинейная модель, описывающая функционирование гипотетической «минимальной» клетки, гены которой идентичны генам этого организма [7]. Авторы уменьшили количество генов *M. genitalium* до 127 для того, чтобы учесть только динамику функционирования минимального клеточного метаболизма: поглощение глюкозы из внешней среды за счет работы фосфотрансферазной системы, синтез АТФ в процессе гликолиза, экспорт лактата из клетки. Для обеспечения процессов транскрипции и трансляции в модели также учитывались синтез и деградация таких биологических объектов, как РНК полимеразы, рРНК и тРНК. Моделируемая клетка являлась самоподдерживающейся структурой, но в ней не учитывались процессы репликации ДНК и деления клетки.

Значительным прогрессом в этом направлении стала недавняя работа группы Маркуса Каверта [8], в которой авторы представили компьютерную модель жизненного цикла *M. genitalium* с учетом функционирования всех 525 белок-кодирующих генов организма. Предложенная математическая модель объединяет в себе 28 подмоделей, каждая из которых описывает динамику функционирования определенного молекулярно-генетического процесса (инициация репликации, репликация, транскрипция, трансляция, метаболизм, цитокинез и др.), основана на анализе более 900 публикаций и включает порядка 2000 экспериментально идентифицированных количественных параметров. Адекватность этой модели была подтверждена на широком наборе независимых экспериментальных данных, с её помощью были предсказаны новые кинетические параметры, значения которых были подтверждены дополнительными экспериментами. По мнению авторов, модель клетки *M. genitalium* является технологической основой для разработки более сложной модели, описывающей функционирование классического объекта молекулярной биологии – *E. coli*.

Следует отметить, что, несмотря на значительную сложность организма *E. coli*, геном которой почти на порядок больше, чем у *M. genitalium*, идея создания на её основе *in silico* клетки продолжает развиваться. Так, с целью преодоления имеющихся проблем при разработке «виртуальной» клетки *E. coli*, создан международный консорциум-проект Alliance (IECA), направленный на широкомасштабную интеграцию и анализ экспериментальных постгеномных данных по этому организму [33]. Аналогичный международный проект направлен на создание *in silico* клетки *Saccharomyces cerevisiae* [34].

Несмотря на значимость представленных работ, разработанные математические модели являются лишь основой для создания полномасштабной модели клетки, что, в принципе, подчеркивают и сами авторы указанных выше моделей.

2. ПРОБЛЕМЫ

Какие на данный момент существуют трудности при разработке математических моделей биологических систем вообще и индивидуальной клетки, в частности?

Во-первых, благодаря прогрессу в моделировании живых систем, с каждым годом модели описывают все более сложные биологические процессы [35–40 и др.]. В результате масштаб рассматриваемых систем увеличивается. Однако с увеличением количества рассматриваемых участников процесса (генов, РНК, белков и низкомолекулярных соединений), их взаимодействий, соответствующего количества параметров возникают проблемы интеграции и анализа данных при реконструкции моделей.

Во-вторых, сложность биологических систем такова, что для описания динамики функционирования молекулярных компонентов и их взаимодействий в клетке недостаточно использования только одного метода моделирования. Естественным развитием в моделировании живых систем является и адаптация существующих методов [41, 42] и разработка совершенно новых гибридных подходов, интегрирующих дискретные [36, 43, 44], непрерывные [45–47], использование потоковых [48] и методов, учитывающих также стохастическую природу биологических процессов [49, 50] и т. д. Принципиально нелинейная динамика функционирования живых систем не позволяет выражать аналитически через параметры решения, например, системы обыкновенных дифференциальных уравнений. Поэтому, в общем случае, искомое решение получается на основе решения задачи Коши из заданной начальной точки с помощью численных методов [51–53]. При исследовании молекулярно-генетических систем, тем более целой клетки, встает проблема вычисления решений системы уравнений большой размерности, не говоря уже о проблеме комбинаторной сложности при изучении регуляторных механизмов, во многом определяющих динамику функционирования комплексных генных сетей.

В-третьих, благодаря активному развитию методов молекулярной биологии – высокоэффективных экспериментальных ДНК-чиповых, ПЦР технологий, методов высокоразрешающей масс-спектрометрии, которые позволяют изучать динамику экспрессии тысяч генов одновременно, в том числе и в режиме реального времени [4] – происходит накопление огромного количества гетерогенных экспериментальных данных, описывающих один и тот же феномен, процесс, и зачастую противоречащих друг другу. Эта неоднородность экспериментальных данных обусловлена разными причинами, в том числе и стохастической природой молекулярно-генетических процессов [54], и требует экспертной оценки высококвалифицированных специалистов.

При анализе гетерогенных данных необходимо учитывать многие факторы, включая иерархическую организацию живых систем и различия в характерных временах протекания процессов на каждом из уровней, которые могут различаться на порядки. Так, характерное время связывания транскрипционного фактора с промоторной областью гена составляет около 10^{-6} сек, процесса транскрипции/трансляции – от 10^{-3} до 1 сек, а синтез целевого продукта в метаболических путях может уже занимать порядка одной минуты [6]. Все это накладывает определенные ограничения на динамику функционирования систем, которые следует учитывать.

Следует отметить, что некоторые факторы достаточно сильно влияют на функционирование молекулярно-генетических систем, однако редко учитываются в исследованиях. Так при моделировании клеточных процессов часто за рамками модели остается общее физиологическое состояние клетки: концентрации свободных (несвязанных с РНК) молекул РНК полимеразы и рибосом, количество копий гена на клетку, размер пула свободных аминокислот и нуклеотидов на конкретной стадии роста культуры клеток [55]. Среди исключений – исследование Дэнниса с соавторами [56], в котором предложена модель, интегрирующая молекулярно-генетический уровень регуляции процессов синтеза рибосом в клетке *E. coli* со скоростью роста клеток, т. е. уровнем метаболизма. В классических работах по физиологии бактериальной клетки [57, 58] показано, что скорость роста культуры клеток может

быть использована в качестве характеристики глобального физиологического состояния клетки.

В тоже время, несмотря на появление совершенно новых экспериментальных методик, позволяющих получать огромные массивы количественных данных, основной проблемой в создании «электронной клетки» до сих пор остается принципиальная нехватка экспериментальных данных и ограниченность сведений о молекулярных механизмах генетической регуляции процессов на уровне индивидуальной клетки.

Полнота изученности отдельных организмов, даже одноклеточных, совершенно недостаточна для разработки столь масштабной модели, каковой является *электронная* клетка. Так, для создания электронной копии *E. coli*, необходимо учесть одновременную динамику функционирования более 4000 белок-кодирующих генов, для трети из которых неизвестна даже функция кодируемого ими белка [10]. Контроль функционирования этих генов осуществляет около 250 транскрипционных факторов, и это только те, функции которых и сайты связывания в регуляторных областях генов изучены [59]. На метаболическом уровне необходимо описать кинетику более 1500 ферментативных реакций, механизмы протекания которых, чаще всего не изучены или изучены недостаточно. То есть, масштабность моделируемого объекта, о чем мы уже говорили выше, является существенной проблемой. Не удивительно, что на этом фоне получила развитие концепция минимальной клетки, которая успешно реализуется рядом научных коллективов [7–9].

И наконец, процесс создания математической модели является итеративным процессом, в большинстве случаев сложно формализуемым. На создание и адаптацию к экспериментальным данным подробной математической модели даже такой элементарной подсистемы, как промежуточная ферментативная реакция в метаболическом пути, может быть затрачено значительное время. Непрерывный рост количества математических моделей молекулярно-генетических систем и потребность в моделировании всей совокупности генетически регулируемых метаболических процессов в бактериальной клетке требуют также развития качественно новых технологий автоматизированного конструирования математических моделей. Разработка таких автоматизированных «конструкторов» *in silico* позволили бы не только ускорить процесс создания различных вариантов «электронной клетки» (прототипов новых бактериальных штаммов-продуцентов с заранее заданными физиологическими, метаболическими и другими свойствами) и анализа их динамических свойств, но и значительно облегчила интеграцию, представление комплексных математических моделей живых систем на различных уровнях их иерархической организации. Однако, создание подобных компьютерных систем возможно только при наличии общепринятых стандартов представления, аннотации и семантического анализа математических моделей [60, 61], что также не является до конца решенной проблемой в этой области.

3. ПЕРСПЕКТИВЫ

Каковы возможности в реализации проекта «электронная клетка» в настоящее время? Благодаря современным геномным подходам, методам создания нокаутных линий модельных организмов и подходам, основанным на РНК интерференции, наметился существенный прогресс в идентификации функций генов и их продуктов, регулирующих фундаментальные процессы в клетке. Благодаря скоростным методам секвенирования стали известны полногеномные последовательности многих модельных организмов, в частности, *Mycoplasma genitalium* [32], *Escherichia coli* [62], *Caenorhabditis elegans* [63], *Drosophila melanogaster* [64] и других. Все это создает экспериментальную основу для моделирования таких сложных биологических процессов, каковой является клетка.

Следует отметить, что мощный толчок к развитию новых технологий и экспериментальных подходов, направленных на точную оценку динамики функционирования молекулярно-генетических систем на уровне единичной клетки, был получен благодаря активному внедрению методов математического моделирования в практику экспериментальных исследований [65, 67]. Так, теоретически предсказанный колебательный режим функционирования искусственной генной сети, состоящей из трех взаимно ингибирующих друг друга генов, был экспериментально доказан благодаря разработанной экспериментальной технологии конструирования искусственных генных сетей в сочетании с методами флуоресцентного мечения продуктов синтеза. Этот методический подход позволил Майклу Еловитцу и Станисласу Лейблеру в 2000 году осуществить дизайн и конструирование такой синтетической сети – репресселятора, исследовать его динамику на уровне единичной клетки и подтвердить теоретически предсказанный режим функционирования такой системы [68]. Авторы этой и последующих аналогичных работ неоднократно подчеркивали, что предварительное *in silico* «конструирование» и исследование динамических свойств искусственных генных сетей, метаболических путей позволит значительно продвинуться в области проведения быстрой и недорогой оптимизации совершенно новых свойств живого синтетического организма, в том числе и для наработки целевых продуктов.

Математическое моделирование, позволяющее исследовать функции и взаимодействия огромного количества генов в клетке, в будущем могут стать поистине прорывной технологией в биологии и медицине. В настоящее время, арсенал методов, используемых для моделирования молекулярно-генетических систем, достаточно широк и включает дискретные, непрерывные, стохастические и комбинированные подходы. Среди них можно выделить Булевы сети [69, 70], обобщенные логические сети [71, 72], Байесовские сети [73], динамические Байесовские сети [74, 75]; сети Петри [76, 77], методы моделирования с использованием линейных (поточковых) [38] и кусочно-линейных [42, 45] дифференциальных уравнений; методы моделирования с использованием дифференциальных уравнений, подходы, основанные на применении обыкновенных нелинейных дифференциальных уравнений, в том числе и с запаздывающими аргументами [47, 78–81], стохастическое моделирование [82–84].

В силу новых вызовов, сформировавшихся в постгеномную эру, также получили развитие компьютерные системы и виртуальные среды, ориентированные на математическое моделирование биологических систем. Укажем лишь некоторые из них, в основном используемые в научном сообществе: E-Cell [7], CellDesigner [85], Dbsolve [86], Virtual Cell [87], Cellerator [88], Cytoscape [89], Netbuilder [90], WebCell [91]. Для совмещения различных средств моделирования биологических систем разработчиками компьютерных систем предложен открытый компьютерный формат SBML (<http://sbml.org/index.psp>) [92]. Формат SBML является стандартом представления моделей метаболических процессов в клетке и осуществляет их построение в виде блок-схем с указанием внутренних связей. В рамках этого формата разрабатываются и развиваются системы конструирования и анализа математических моделей [93–95], в том числе, программные средства для решения одной из важнейших теоретических проблем в области моделирования живых систем – параметрической обратной задачи [96–97]. Несмотря на наличие большого числа разработанных компьютерных систем (более 250), отметим ряд ограничений, снижающие их индивидуальные возможности по моделированию молекулярно-генетических систем. В частности, отметим отсутствие возможности построения моделей по генетическим картам, отсутствие средств динамической модификации структуры моделей, слабое развитие систем интеграции моделей на различных иерархических уровнях организации живых систем и отсутствие средств решения задач управления. Хотя уже в

этом году вышло в свет несколько работ, посвященных решению и этих проблем [98, 99].

Активное развитие технологий и программных средств для генерации моделей молекулярно-генетических систем и их анализа требует, в свою очередь, создание специализированных баз данных и разработку на их основе более сложных математических моделей. На данный момент имеется порядка десяти публичных баз данных математических моделей генных сетей, в том числе BioModels [100], CellML [101], JWS Online [102], DOQCS [103], Kegg2sbml [104], Sabio RK [105]. Однако, несмотря на ценность созданных баз данных, они практически не предназначены для дальнейшего использования при построении более масштабных моделей биологических систем, функционирующих под управлением генных сетей. Например, математические модели базы BioModels являются законченными математическими моделями, созданными с целью изучения только определенного биологического феномена, что указывает на значимость BioModels только с точки зрения репозитория математических моделей, но никак не инструмента для интеграции этих математических моделей и автоматического создания на их основе более сложных моделей метаболизма клетки, организма, учитывающих множественные факторы регуляции функционирования метаболических путей и генных сетей.

Рассматривая перспективы создания «виртуальной клетки» в свете существующего уровня развития методов и подходов в области математического моделирования, программных средств, баз данных и экспериментальных возможностей, следует отметить, что стартовым шагом в развитии всего направления может быть создание моделей «минимальной клетки» [9, 106, 107]. Однако, в целом, развитие направления «электронной клетки» сильно зависит от достижений в области функциональной аннотации геномов, транскриптомов, протеомов и т. д. Возможно, в перспективе, именно функциональная аннотация геномов может стать одной из наиболее труднопреодолимых проблем, в силу существенного отставания уровня развития ее подходов от методов скоростного секвенирования и анализа геномов. Несмотря на это, создание компьютерного ресурса, содержащего в себе многочисленные элементы «электронной клетки», является реализуемой и стратегически важной задачей для развития всей современной биологии.

Появление все более масштабных проектов, направленных на создание математических моделей *in silico* тканей и органов [108, 109], только подчеркивают стратегическую важность моделирования индивидуальной клетки, как основы любой живой системы. Естественно, что реализация такого рода проектов будет возможна лишь на основе создания консорциумов между специалистами в областях молекулярной биологии, геномной инженерии, физиологии, математической биологии и др., а также интеграции достижений в этих проектах.

Какие перспективы (возможности) открывает перед исследователями реализация проекта «электронная клетка»? Несомненно, что реализация проекта «электронная клетка», в первую очередь, скажется на развитии фундаментальных проблем, связанных с изучением закономерностей организации генных сетей и их эволюции, исследованием причинно-следственных связей между структурно-функциональной организацией генетических систем и фенотипическими характеристиками биологических систем. Появится возможность разработки принципиально новых, универсальных и экономичных технологий, обеспечивающих конструирование искусственных генных сетей, основанных на их рациональном дизайне. В совокупности с современными методами биоинженерии эти возможности станут ключевыми в решении широкого круга практически важных задач, в том числе при создании сверхчувствительных систем детекции и скрининга биологически активных веществ, проектировании микробиореакторов для биотехнологии и

биомедицины, создании нового поколения методов генетической диагностики, проектировании систем для производства новых биомедицински/биотехнологически значимых веществ (белков, лекарственных препаратов), а также при решении задач оптимального управления биологическими процессами.

Примеры таких экспериментально-теоретических работ, направленных на исследование режимов динамического поведения искусственных молекулярно-генетических систем, уже существуют. Первыми попытками в создании синтетической геномной сети *E. coli* были работы групп Джеймса Коллинза [110], Рустэма Чураева [111] и Еловитца с Лейблером [68]. На «генетическом конструкторе – переключателе», состоящем из двух взаимно ингибирующих друг друга репрессоров, группам Дж. Коллинза и Р. Чураева удалось сначала теоретически предсказать, а потом экспериментально подтвердить явления бистабильности и гистерезиса в данной искусственной системе. Во второй работе [68] была исследована более сложная искусственная геномная сеть, состоящая из трех последовательно ингибирующих друг друга репрессоров. Теоретически предсказанный колебательный режим функционирования этой системы был экспериментально верифицирован методами флуоресцентной микроскопии на уровне единичной клетки. Результаты этих работ позволили обосновать важность создания искусственных геномных сетей, как инструмента для управления клеточным поведением и исследования закономерностей функционирования молекулярно-генетических систем, а также показали, что предварительный теоретический дизайн сложных и биотехнологически важных геномных сетей является реализуемой и достижимой целью.

Несмотря на дальнейшее развитие этого направления синтетической биологии [112–114], исследования арифметических и кибернетических возможностей систем на примере искусственных геномных сетей [115] существенно ограничены размерностью разрабатываемых конструкций. Создание теоретической платформы в виде «электронной клетки» позволит существенно продвинуть исследования природных молекулярно-генетических систем большой размерности, имеющих как фундаментальный, так и прикладной характер.

4. НУЖНА ЛИ В РОССИИ СВОЯ «ЭЛЕКТРОННАЯ КЛЕТКА»?

Признавая реалии сегодняшнего уровня развития биологической науки, трудно отрицать важность и необходимость все более широкого внедрения метода математического моделирования для анализа живых систем. Имея перед глазами понимание той безоговорочной роли, которую метод математического моделирования играет в физике и смежных науках, хотелось бы, чтобы это понимание пришло и в биологию. В этом смысле афоризмы выдающихся немецких ученых Иммануила Канта: “В каждой естественной науке заключено столько истины, сколько в ней есть математики” и Густава Роберта Кирхгофа: «Нет ничего более практичного, чем хорошая теория» не потеряли своей актуальности и в 21-м веке. Они только подчеркивают необходимость и важность создания, в первую очередь, теоретической платформы в современной биологии для ее дальнейшего инновационного (бурного) развития, о котором в последнее время так часто говорят и пишут в научных и научно-популярных статьях.

В настоящее время в мире уже существует несколько официально поддерживаемых масштабных проектов по созданию «электронной клетки» [33, 34], но ни в одном из них российские ученые не участвуют.

Институтом математических проблем биологии РАН (г. Пущино) инициирован проект «Математическая клетка» [145], задачей которого является создание информационно-программной среды, предназначенной для исследования живой клетки

с помощью методов математического моделирования (<http://www.mathcell.ru/>), однако его развитие ограничено ресурсами этого Института.

Следует отчетливо понимать, что такой проект не просто создание некой отвлеченной, никому не нужной «виртуальной» клетки, а необходимая база, платформа, на которой могут строиться как теоретические, так и экспериментальные исследования биологических систем и процессов любого уровня, причем не только на качественном, но, что особенно ценно, на количественном уровне. В этом смысле, создание в России своей «электронной клетки» – это необходимое условие не только для успешной реализации каких-либо масштабных проектов по исследованию горячих точек современной биологической науки, включая исследования стволовых, раковых, нервных и др. клеток, но и для того, чтобы через 10–15 лет не оказаться на обочине мировой науки.

В России существуют возможности для создания и развития такого проекта, поскольку она традиционно имеет сильные позиции в области биоинформатики и математического моделирования. Необходимо только понимание важности и нужности его реализации для будущего развития биологии в России.

5. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ ГЕНА В РОССИИ

В России существует две крупные школы математического моделирования молекулярно-генетических систем, которые можно было бы назвать «европейской» и «сибирской» по их территориальной принадлежности.

«Европейская» школа, которая сформировалась в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН (г. Пущино), в лаборатории метаболического моделирования и биоинформатики под руководством Евгения Е. Селькова, активно работала с начала 70-х годов и до конца XX столетия. Ею разработаны теоретические основы динамических свойств молекулярно-генетических систем клетки и иерархической организации метаболических путей [116, 117], а также математические модели ряда ферментативных реакций и генетических систем регуляции экспрессии генов в индивидуальной клетке [118, 119]. Модели были созданы на основе классических методов ферментативной кинетики и собственных оригинальных разработок [120], которые и послужили основой для создания базы данных ЕМР, содержащей результаты ручной аннотации экспериментальных данных о более чем 2800 метаболических путях, функционирующих в 1400 организмах [121, 122].

Развитие подходов, разработанных в лаборатории Е.Е. Селькова, было продолжено в группе кинетического моделирования Института физико-химической биологии им. Белозерского (<http://biokinetics.ru>). На их основе было создано несколько десятков математических моделей, описывающих динамику функционирования различных метаболических путей клетки [123–127]. В настоящее время этой группой развивается оригинальный пакет программ для создания и анализа кинетических моделей [86].

«Сибирская» школа теоретического и компьютерного исследования молекулярно-генетических систем (МГС) и процессов представлена рядом Институтов СО РАН и связанных с ними научных организаций Новосибирска (Институт цитологии и генетики, Институт математики, Институт вычислительных технологий, ВЦ СО РАН, ГНЦВБ «Вектор» и др.).

Основоположниками Новосибирской школы математической биологии являются выдающиеся ученые чл.-корр. АН СССР А.А. Ляпунов (ИМ СО РАН) и проф. В.А. Ратнер (ИЦиГ СО РАН). Убежденность А.А. Ляпунова в том, что естественные науки, и в первую очередь биологию, необходимо поставить на «математическую ногу», привела его в последнее десятилетие жизни к занятию математическим моделированием биологических процессов. В середине 1970-х годов В.А. Ратнером была сформулирована концепция молекулярно-генетических систем управления клетки

и организма, ставшая основой информационно-кибернетического подхода к моделированию молекулярно-генетических процессов [128].

За годы развития Новосибирской школы математического моделирования живых систем разработаны десятки оригинальных математических моделей молекулярно-генетических систем, в частности, модели онтогенеза бактериофага лямбда, вируса гриппа, гомеостаза холестерина, метаболизма ауксина в клетке растений и его транспорта в корне растений и многие другие [37, 78, 129–136]. Разработаны методы моделирования, включая дискретный подход [36], пороговый метод [137], обобщенный химико-кинетический метод [138] и метод обобщенных функций Хилла [139]. Ключевым достоинством последнего является возможность построения адекватных математических моделей с минимальной сложностью описания моделируемых процессов в условиях недостатка знаний о тонких механизмах их протекания [140]. На основе двух последних методов в Институте цитологии и генетики развивается блочный принцип построения математических моделей генных сетей, который позволяет моделировать иерархические, сложные молекулярно-генетические системы. Базисным в данном подходе является этап разработки математических моделей элементарных подсистем целевой биологической системы. Таковыми для клетки являются ферментативные реакции, процессы регуляции экспрессии генов, подсистемы синтеза ДНК, РНК, белков, их модификации и деградации и т. д. На последующих этапах базисные модели используются в качестве строительных элементов для построения более сложных моделей, например, моделей отдельных метаболических путей, моделей репликации, транскрипции, трансляции и т. д. Затем наступает этап синтеза еще более сложных моделей: моделей базового метаболизма клетки, клеточного цикла и др. На основе этого подхода разработан и развивается собственный стандарт спецификации моделей, позволяющий создавать конструкторы молекулярно-генетических систем для проведения генно-инженерных экспериментов *in silico*.

В настоящее время данное направление в Институте цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск) представляет группа моделирования молекулярно-генетических систем (<http://modelsgroup.bionet.nsc.ru/>). Как правило, в разные годы оригинальные методы и алгоритмы реализовывались в виде программных продуктов, которые использовались для разработки и анализа моделей в численных компьютерных экспериментах. В результате, к настоящему времени на основе этих программных модулей разработаны программные комплексы MGSgenerator [141, 142] и MGSmodeller [143]. Программный комплекс MGSgenerator является промежуточным звеном в процессе генерации математических моделей. Его цель – автоматическое построение математической модели по имеющейся структурно-функциональной организации генной сети, метаболического пути и ряду дополнительных комментариев. Входными данными для системы является структурно-функциональная организация генной сети, описанная в формате компьютерной системы GeneNet [144]. Математические модели генных сетей генерируются на основе обобщенного химико-кинетического подхода. Функциональность «MGSmodeller» обеспечивает создание и редактирование моделей молекулярно-генетических систем. Для расчета динамики моделей, представляющих системы обыкновенных дифференциальных уравнений, в системе MGSmodeller используется метод Гира.

Для хранения моделей элементарных подсистем разработана база MGSmodelsDB (<http://modelsgroup.bionet.nsc.ru/MGSmodelsDB/>, рис. 2).

База имеет модульную структуру, позволяющую хранить: (1) структурные модели элементарных процессов; (2) математические модели элементарных процессов; (3) наборы значений параметров индивидуальных математических моделей. База снабжена встроенным программным модулем автоматической генерации математических моделей сложных метаболических и молекулярно-генетических систем на основе информации о субстратах и продуктах в отобранных элементарных процессах. В

настоящее время MGSmodelsDB содержит более 100 совместимых элементарных моделей, описывающих процессы синтеза нуклеотидов и дыхания в клетке *E. coli*. Собранные математические модели могут быть представлены в различных форматах, в том числе в международных форматах SBML, Matlab, Mathematica.

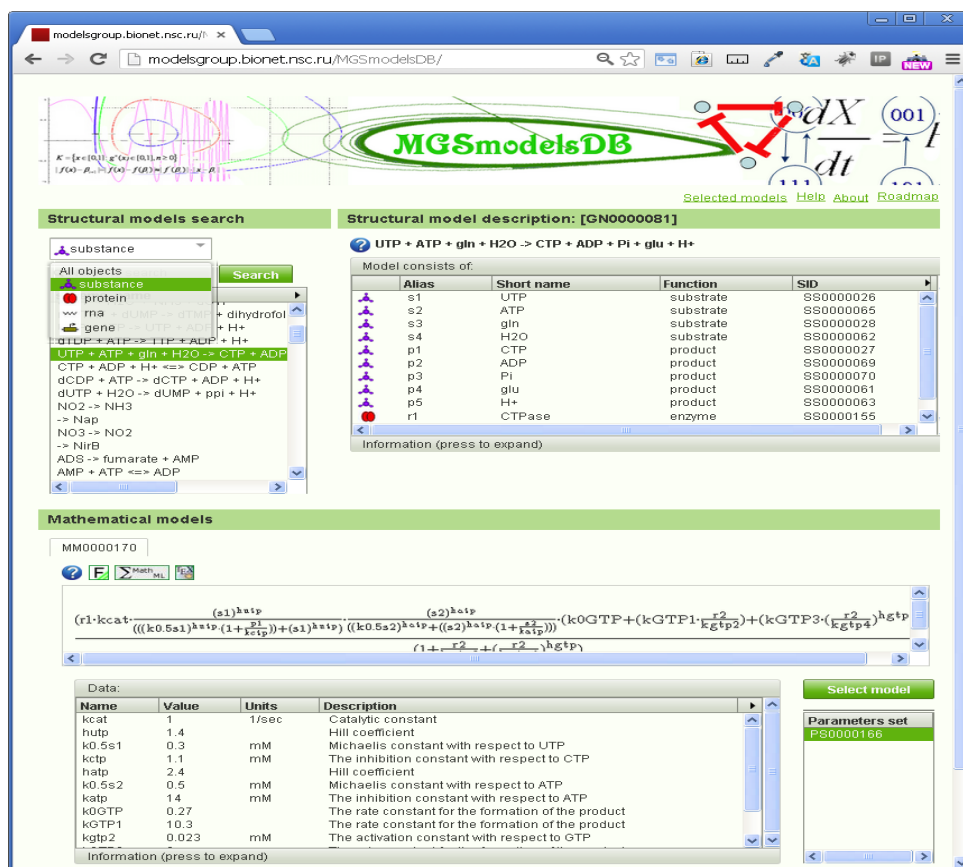


Рис. 2. База математических моделей элементарных подсистем клетки MGSmodelsDB: в левом верхнем углу указан список молекулярно-генетических систем в базе. В левом правом углу представлено описание выбранной элементарной подсистемы (ферментативная реакция $UTP + ATP + gln + H_2O \rightarrow CTP + ADP + Pi + glu + H^+$). Ниже представлено математическое представление скорости данной реакции и значения параметров математической модели с указанием единиц измерения.

Модели, представленные в базе MGSmodelsDB, разработаны на основе закона действующих масс, метода Кинга-Альтмана, а также на основе обобщенных функций Хилла [139]. Значения части параметров моделей представлены в базе кинетических данных KiNET (временный сервер - <http://kinet.biomodelsgroup.ru/>, рис. 3), которая разработана авторами для интеграции литературных данных о кинетике ферментативных реакций (условия эксперимента, значения кинетических параметров, концентрации ключевых метаболитов, ферментов) в *E. coli*. В настоящее время база содержит кинетические данные для более, чем 30-ти метаболических путей и содержит описание более 500 экспериментов.

Таким образом, в группе моделирования молекулярно-генетических систем ИЦиГ СО РАН разработана технологическая основа для ускорения процедуры создания моделей отдельных метаболических путей с учетом процессов генетической регуляции и для их последующей интеграции в комплексную модель всей бактериальной *in silico* клетки.

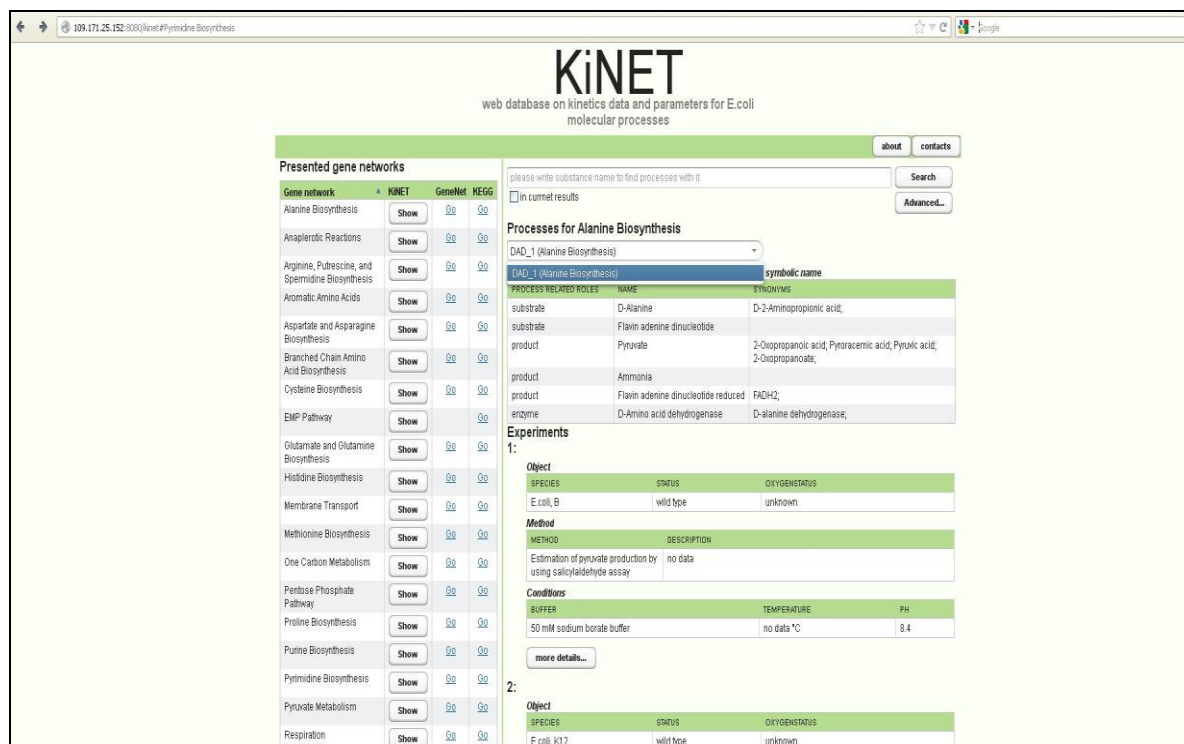


Рис. 3. База кинетических данных KINET для молекулярно-генетических систем *E. coli*: в левой части представлен список всех молекулярно-генетических систем, для которых в базе присутствуют кинетические данные, с указанием соответствующих описаний генных сетей в базах GeneNet и KEGG. В правой части представлены опубликованные кинетические данные для одной из реакций биосинтеза аланина.

В заключение хотелось бы отметить, что было бы глубоким заблуждением считать, что столь масштабный проект, каковым является «электронная клетка» реализуем усилиями небольшой группы исследователей, особенно если его рассматривать как инструмент исследования молекулярно-генетических процессов в точности воспроизводящий динамические свойства клетки *in vivo* на количественном уровне. Однако разработка информационно-компьютерного ресурса, содержащего в себе многочисленные элементы «электронной клетке», вполне осуществима.

По нашему убеждению, обсуждаемая в статье сверхзадача – создание полномасштабной модели индивидуальной клетки, является на настоящий момент одной из наиболее актуальных проблем-вызовов системной биологии и для ее решения необходимо объединение усилий и проведение масштабных работ, как в теоретических, так и в экспериментальных областях биологических наук. Следует отчетливо понимать, что если мы не будем двигаться в данном направлении, то очень скоро окажемся на периферии мирового научного сообщества. Только непрерывное движение в развитии направления, которое мы назвали «Математическая биология гена», позволит создать в итоге необходимую программную и информационную среду для моделирования и анализа функционирования клетки, а вместе с ней и систем более высокого иерархического уровня.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (13-01-00344-а), интеграционного проекта Президиума СО РАН №80, программы Президиума РАН (6.6) и гранта научной школы № 5278.2012.4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Watson J. D. and Crick F.H. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953. V. 171. P. 737–738.

2. Jacob F. and Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* 1961. V. 3. P. 318–356.
3. Palsson B. The challenges of *in silico* biology. *Nat. Biotechnol.* 2000. V. 18. P. 1147–1150.
4. Evans G.A. Designer science and the “omic” revolution. *Nat. Biotechnol.* 2000. V. 18. P. 127.
5. Kitano H. *Foundations of Systems biology*. MIT Press, 2001. 290 p.
6. Klipp E., Liebermeister W., Wierling C., Kowald A., Lehrach H., Herwig R. *Systems Biology: a Textbook*. 2009. 592 p.
7. Tomita M., Hashimoto K., Takahashi K., Shimizu T. S., Matsuzaki Y., Miyoshi F., Saito K., Tanida S., Yugi K., Venter J.C., Hutchison C. A. E-CELL: Software Environment for Whole Cell Simulation. *Genome Inform Ser Workshop Genome Inform.* 1997. V. 8. P. 147–155.
8. Karr J.R., Sanghvi J.C., Macklin D.N., Gutschow M.V., Jacobs J.M., Bolival Jr. B., Assad-Garcia N., Glass J.I., Covert M.W. A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype. *Cell.* 2012. V. 150. P. 389–401.
9. Shuler M.L., Foley P., Atlas J. Modeling a minimal cell. *Meth. Mol Biol.* 2012. V. 881. P. 573–610.
10. Gavin T. *Escherichia coli*: model and menace. *Microbiology today.* 2004. V. 31. P. 114–115.
11. Glasner J. and Perna N. Comparative genomics of *E. coli*. *Microbiology today.* 2004. V. 31. P. 124–125.
12. Cooper S. and Helmstetter C.E. Chromosome Replication and the Division Cycle of *Escherichia coli* B/r. *J. Mol. Biol.* 1968. V. 31. P. 619–644.
13. Pritchard R.H., Barth P.T., Collins J. Control of DNA synthesis in bacteria. In: *Microbial Growth, Symposium of Society of General Microbiology.* 1969. V. 19. P. 263–297.
14. Zaritsky A., Vischer N., Rabinovitch A. Changes of initiation mass and cell dimensions by the 'eclipse'. *Mol. Microbiol.* 2007. V. 63. № 1. P. 15–21.
15. Zaritsky A., Wang P., Vischer N.O. Instructive simulation of the bacterial cell division cycle. *Microbiology.* 2011. V. 157. № 7. P. 1876–1885.
16. Drozdov-Tikhomirov L.N., Scurida G.I., Serganova V.V. Inner metabolic fluxes in multienzyme systems: Lysine synthesis on acetate by *Clostridium acetobutylicum*. *Biotechnologia (Moscow).* 1986. V. 2. P. 28–37.
17. Drozdov-Tikhomirov L.N., Scurida G.I., Davidov A.V., Alexandrov A.A., Zvyagilskaya R.A. Mathematical modeling of living cell metabolism using the method of steady-state stoichiometric flux balance. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2006. V. 4. P. 865–885.
18. Varma A., Palsson B.O. Stoichiometric flux balance models quantitatively predict growth and metabolic by-product secretion in wild-type *Escherichia coli* W3110. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. V. 60. № 10. P. 3724–3731.
19. Назипова Н.Н., Елькин Ю.Е., Панюков В.В., Дроздов-Тихомиров Л.Н. Расчет скоростей метаболических реакций в живой клетке методом баланса стационарных метаболических потоков (метод БСМП). *Матем. биология и биоинформ.* 2007. Т. 2. С. 98–119.
20. Llaneras F., Pico J. Stoichiometric modeling of cell metabolism. *J. Biosci. Bioeng.* 2008. V. 105. P. 1–11.
21. Edwards J.S., Palsson B.O. The *Escherichia coli* MG1655 *in silico* metabolic genotype: its definition, characteristics, and capabilities. *PNAS.* 2000. V. 97. № 10. P. 5528–5533.
22. Reed J.L. and Palsson B.O., Thirteen Years of Building Constraints-Based *in silico* Models of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2003. V. 185. № 9. P. 2692–2699.

23. Kim J.I., Varner J.D., Ramkrishna D. A hybrid model of anaerobic *E. coli* GJT001: combination of elementary flux modes and cybernetic variables. *Biotechnol. Prog.* 2008. V. 24. № 5. P. 993–1006. doi: 10.1002/btpr.73.
24. Covert M.W., Xiao N., Chen T.J., Karr J.R. Integrating metabolic, transcriptional regulatory and signal transduction models in *Escherichia coli*. *Bioinformatics.* 2008. V. 24. № 18. P. 2044–2050. doi: 10.1093/bioinformatics/btn352.
25. Edwards J.S., Ibarra R.U., Palsson B.O. *In silico* predictions of *Escherichia coli* metabolic capabilities are consistent with experimental data. *Nat. Biotechnol.* 2001 V. 19. P. 125–130.
26. Van Dien S.J., Iwatani S., Usuda Y., Matsui K. Theoretical analysis of amino acid-producing *Escherichia coli* using a stoichiometric model and multivariate linear regression. *J. Biosci. Bioeng.* 2006. V. 102. P. 34–40.
27. Shuler M.L., Leung S., Dick C.C. A mathematical model for the growth of a single bacterial cell. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1979. V. 326. № 1. P. 35–52.
28. Domach M.M., Leung S.K., Cahn R.E., Cocks G.G., Shuler M.L. Computer-model for glucose-limited growth of a single cell of *Escherichia coli* b/R-A. *Biotechnol. Bioeng.* 1984. V. 26. P. 203–216.
29. Shuler M.L. Single-cell models: Promise and limitations. *J. Biotechnol.* 1999. V. 71. P. 225–228.
30. Browning S.T. and Shuler M.L. Towards the development of a minimal cell model by generalization of a model of *Escherichia coli*: Use of dimensionless rate parameters. *Biotechnol. Bioeng.* 2001. V. 76. P. 187–192.
31. Browning S.T., Castellanos M., Shuler M.L. Robust control of initiation of prokaryotic chromosome replication: essential considerations for a minimal cell. *Biotechnol. Bioeng.* 2004. V. 88. № 5. P. 575–584.
32. Peterson S.N., Hu P.C., Bott K.F., Hutchison C.A. 3rd. A survey of the *Mycoplasma genitalium* genome by using random sequencing. *J. Bacteriol.* 1993. V. 175. № 24. P. 7918–7930.
33. Holden C. Cell biology. Alliance launched to model *E. coli*. *Science.* 2002. V. 297. № 5586. P. 1459–1460.
34. Snoep J.L. The Silicon Cell initiative: working towards a detailed kinetic description at the cellular level. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2005. V. 16. № 3. P. 336–343.
35. Ruckenstein E. and Simon Z. Regulation and synthesis in the living cell. I. Kinetics of ribonucleic acid synthesis. *J. Theor. Biol.* 1966. V. 11. № 2. P. 282–298.
36. Чураев Р.Н., Ратнер В.А. Моделирование молекулярно-генетических систем управления на языке теории автоматов. Сообщ. I. В: *Опероны и оперонные системы Исследования по теоретической генетике*. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1972. С. 210–228.
37. Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G., Vatolin Yu.N., Bazhan S.I. A generalized chemical kinetic method for simulating complex biological systems. A computer model of λ phage ontogenesis. *Comput. Technol.* 2000. V. 5. № 2. P. 87–99.
38. Covert M.W., Knight E.M., Reed J.L., Herrgard M.J., Palsson B.O. Integrating high-throughput and computational data elucidates bacterial networks. *Nature.* 2004. V. 429. P. 92–96.
39. Thiele I., Jamshidi N., Fleming R.M., Palsson B.O. Genome scale reconstruction of *Escherichia coli*'s transcriptional and translational machinery: a knowledge base, its mathematical formulation, and its functional characterization. *PLoS Comput. Biol.* 2009. V. 5. № 3. P. e1000312. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000312.
40. Orth J.D., Conrad T.M., Na J., Lerman J.A., Nam H., Feist A.M., Palsson B.O. A comprehensive genome-scale reconstruction of *Escherichia coli* metabolism–2011. *Mol. Syst. Biol.* 2011. V. 7. P. 535.

41. Glass L. Combinatorial and topological methods in nonlinear chemical kinetics. *J. Chem. Phys.* 1975. V. 63. №4. P. 1325–1335.
42. Edwards R. Analysis of continuous-time switching networks. *Physica D.* 2000. V. 146. P. 165–199.
43. Kauffman S. Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic net. *J. Theor. Biol.* 1969. V. 22. № 3. P. 437–467.
44. Thomas R. Boolean formalization of genetic control circuits. *J. Theor. Biol.* 1973. V. 42. № 3. P. 563–585.
45. Mestl T., Plahte E., Omholt S.W. A mathematical framework for describing and analysing gene regulatory networks. *J. Theor. Biol.* 1995. V. 176. № 2. P. 291–300.
46. Endy D., Kong D., Yin J. Intracellular kinetics of a growing virus: a genetically structured simulation for bacteriophage T7. *Biotechnol. Bioeng.* 1997. V. 55. № 2. P. 375–389.
47. Smolen P., Baxter D.A., Byrne J.H. Modeling transcriptional control in gene networks – methods, recent results, and future directions. *Bull. Math. Biol.* 2000. V. 62. № 2. P. 247–292.
48. Covert M.W. and Palsson B.O. Constraints-based models: regulation of gene expression reduces the steady-state solution space. *J. Theor. Biol.* 2003. V. 221. № 3. P. 309–325.
49. Gillespie D. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *J. Phys. Chem.* 1977. V. 81. P. 2340–2361.
50. McAdams H.H. and Arkin A. Stochastic mechanisms in gene expression. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. № 3. P. 814–819.
51. Яненко Н.Н. *Метод дробных шагов для решения многомерных задач математической физики.* Новосибирск «Наука», 1967. 167 с.
52. Gear C.W. The automatic integration of ordinary differential equations. *Communs. ACM.* 1971. V. 14. P. 176–190.
53. Butcher J. C. Numerical methods for ordinary differential equations. *Wiley*, 2008.
54. Elowitz M.B., Levine A.J., Siggia E.D., Swain P.S. Stochastic gene expression in a single cell. *Science.* 2002. V. 297. P. 1183–1186.
55. Berthoumieux S., de Jong H., Baptist G., Pinel C., Ranquet C., Ropers D., Geiselmann J. Shared control of gene expression in bacteria by transcription factors and global physiology of the cell. *Mol. Syst. Biol.* 2013. V. 9. P. 634. doi:10.1038/msb.2012.70.
56. Dennis P., Ehrenberg M., Bremer H. Control of rRNA synthesis in *Escherichia coli*: a systems biology approach. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2004. V. 68. P. 639–668.
57. Maaloe O. and Kjeldgaard N. O. *Control of macromolecular synthesis: a study of DNA, RNA, and protein synthesis in bacteria.* New York: WA Benjamin, 1966. V. 4.
58. Scott M. and Hwa T. Bacterial growth laws and their applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2011. V. 22. № 4. P. 559–565.
59. Sundararaj S., Guo A., Habibi-Nazhad B., Rouani M., Stothard P., Ellison M., Wishart D.S. The CyberCell Database (CCDB): a comprehensive, self-updating, relational database to coordinate and facilitate in silico modeling of *Escherichia coli*. *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. P. D293–D295.
60. Schulz M., Krause F., Le Novere N., Klipp E., Liebermeister W. Retrieval, alignment, and clustering of computational models based on semantic annotations. *Mol. Syst. Biol.* 2011. V. 7. P. 512. doi:10.1038/msb.2011.41.
61. Courtot M., Juty N., Knupfer C., Waltemath D., Zhukova A., Dräger A., Dumontier M., Finney A., Golebiewski M., Hastings J. et al. Controlled vocabularies and semantics in systems biology. *Mol. Syst. Biol.* 2011. V. 7. P. 543. doi:10.1038/msb.2011.77.
62. Blattner F. R., Plunkett G. III, Bloch C., Perna N.T., Burland V., Riley M., Collado-Vides J., Glasner J.D., Rode C.K., Mayhew G.F. et al. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science.* 1997. V. 277. № 5331. P. 1453–1462.

63. *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science*. 1998. V. 282. № 5396. P. 2012–2018.
64. Adams M.D., Celniker S.E., Holt R.A., Evans C.A., Gocayne J.D., Amanatides P.G., Scherer S.E., Li P.W., Hoskins R.A., Galle R.F. et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*. 2000. V. 287. № 5461. P. 2185–2195.
65. Bakstad D., Adamson A., Spiller D.G., White M.R.H. Quantitative measurement of single cell dynamics. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2012. V. 23. P. 103–109.
66. Dubuis J.O., Samanta R., Gregor T. Accurate measurements of dynamics and reproducibility in small genetic networks. *Mol. Syst. Biol.* 2013. V. 9. P. 639. doi: 10.1038/msb.2012.72.
67. Hanley M.B., Lomas W., Mittar D., Maino V., Park E. Detection of Low Abundance RNA Molecules in Individual Cells by Flow Cytometry. *PLoS ONE*. 2013. V. 8. № 2. P. e57002. doi:10.1371/journal.pone.0057002.
68. Elowitz M.B. and Leibler S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature*. 2000. V. 403. № 6767. P. 335–338.
69. Kauffman S.A. *The origins of order: self-organization and selection in evolution*. N.Y.: Oxford Univ. Press, 1993. 223 p.
70. Graudenzi A., Serra R., Villani M., Damiani C., Colacci A., Kauffman S. A. Dynamical properties of a Boolean model of gene regulatory network with memory. *J. Comput Biol.* 2011. V. 18. № 10. P. 1291–1303.
71. Thomas R., Thieffry D., Kaufman M. Dynamical behavior of biological regulatory networks--I. Biological role of feedback loops and practical use of the concept of the loop-characteristic state. *Bull. Math. Biol.* 1995. V. 57. № 2. P. 247–276.
72. Thieffry D., Thomas R. Qualitative analysis of gene networks. *Pac. Symp. Biocomput.* 1998. P. 77–88.
73. Friedman N., Linial M., Nachman I., Peer D. Using Bayesian networks to analyze expression data. *J. Comput. Biol.* 2000. V. 7. P. 601–620.
74. Ong I.M., Glasner J.D., Page D. Modelling regulatory pathways in *E. coli* from time series expression profiles. *Bioinformatics*. 2002. V. 18. № 1. P. 241–248.
75. Perrin B.E., Ralaivola L., Mazurie A., Bottani S., Mallet J., d'Alche-Buc F. Gene networks inference using dynamic Bayesian networks. *Bioinformatics*. 2003. № 2. P. 138–148.
76. Hofstadt R., Meineke F. Interactive modelling and simulation of biochemical networks. *Comput. Biol. Med.* 1995. V. 25. № 3. P. 321–334.
77. Soliman S. Invariants and Other Structural Properties of Biochemical Models as a Constraint Satisfaction Problem. *Algorithms Mol. Biol.* 2012. V. 7. № 1. P. 15.
78. Bazhan S.I., Likhoshvay V.A., Belova O.E. Theoretical analysis of the regulation of interferon expression during priming and blocking. *J. Theor. Biol.* 1995. V. 175. P. 149–160.
79. Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Фадеев С.И. Задачи теории функционирования генных сетей. *Журнал индустриальной математики*. 2003. Т. 6. С. 64–80.
80. Лихошвай В.А., Фадеев С.И., Демиденко Г.В., Матушкин Ю.Г. Моделирование многостадийного синтеза вещества без ветвления уравнением с запаздывающим аргументом. *Сибирский журнал индустриальной математики*. 2004. Т. 7. № 1. С. 73–94.
81. Демиденко Г.В., Колчанов Н.А., Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Фадеев С.И. Математическое моделирование регулярных контуров генных сетей. *Журнал вычислительной математики и математической физики*. 2004. Т. 44. № 10. С. 1921–1940.
82. McAdams H. and Arkin A. Simulation of prokaryotic genetic circuits. *Ann. Rev. Biophys. Biomed. Struct.* 1998. V. 27. P. 199–224.

83. Turner T.E., Schnell S., Burrage K. Stochastic approaches for modelling *in vivo* reactions. *Comput. Biol. Chem.* 2004. V. 28. № 3. P. 165–178.
84. Ocone A., Millar A. J., Sanguinetti G. Hybrid regulatory models: a statistically tractable approach to model regulatory network dynamics. *Bioinformatics.* 2013. doi: 10.1093/bioinformatics/btt069.
85. Funahashi A., Morohashi M., Kitano H., Tanimura N. CellDesigner: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *Biosilico.* 2003. V. 1. № 5. P. 159–162.
86. Gizzatkulov N.M., Goryanin I.I., Metelkin E.A., Mogilevskaya E.A., Peskov K.V., Demin O.V. DBSolve Optimum: a software package for kinetic modeling which allows dynamic visualization of simulation results. *BMC Syst. Biol.* 2010. V. 4. № 109. P. 1–11.
87. Moraru I.I., Schaff J.C., Slepchenko B.M., Loew L.M. The virtual cell. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002. V. 971. № 1. P. 595–596.
88. Shapiro B.E., Levchenko A., Meyerowitz E.M., Wold B.J., Mjolsness E.D. Cellerator: extending a computer algebra systems to include biochemical arrows for signal transduction simulations. *Bioinformatics.* 2003. V. 19. № 5. P. 677–678.
89. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research.* 2003. V. 13. № 11. P. 2498–2504.
90. Wegner K., Knabe J., Robinson M., Egri-Nagy A., Schilstra M., Nehaniv C. The NetBuilder'project: development of a tool for constructing, simulating, evolving, and analysing complex regulatory networks. *BMC Syst. Biol.* 2007. V. 1. № 1. P. 72.
91. Lee D.Y., Yun C., Cho A., Hou B.K., Park S., Lee S. Y. WebCell: a web-based environment for kinetic modeling and dynamic simulation of cellular networks. *Bioinformatics.* 2006. V. 22. № 9. P. 1150–1151.
92. Hucka M., Finney A., Sauro H.M., Bolouri H., Doyle J.C., Kitano H., Arkin A. P., Bornstein B.J., Bray D., Cornish-Bowden A. *et al.* The systems biology markup language (SBML): a medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics.* 2003. V. 19. № 4. P. 524–531.
93. Drager A., Hassis N., Supper J., Schroder A., Zell A. SBMLsqueezer: a CellDesigner plug-in to generate kinetic rate equations for biochemical networks. *BMC Syst. Biol.* 2008. V. 2. № 1. P. 39.
94. Wrzodek C., Buchel F., Ruff M., Drager A., Zell A. Precise generation of systems biology models from KEGG pathways. *BMC Syst. Biol.* 2013. V. 7. № 1. P. 15.
95. Takizawa H., Nakamura K., Tabira A., Chikahara Y., Matsui T., Hiroi N., Funahashi A. LibSBMLSim: A reference implementation of fully functional SBML simulator. *Bioinformatics.* 2013. doi: 10.1093/bioinformatics/btt157.
96. Calzone L., Fages F., Soliman S. BIOCHAM: an environment for modeling biological systems and formalizing experimental knowledge. *Bioinformatics.* 2006. V. 22. № 14. P. 1805–1807.
97. Adams R., Clark A., Yamaguchi A., Hanlon N., Tsorman N., Ali S., Lebedeva G., Goltsov A., Sorokin A., Akman O.E. *et al.* SBSI: an extensible distributed software infrastructure for parameter estimation in systems biology. *Bioinformatics.* 2013. V. 29. P. 664–665.
98. Sutterlin T., Kolb C., Dickhaus H., Jager D., Grabe N. Bridging the scales: semantic integration of quantitative SBML in graphical multi-cellular models and simulations with EPISIM and COPASI. *Bioinformatics.* 2013. V. 29. № 2. P. 223–229.
99. Berkhout J., Teusink B., Bruggeman F.J. Gene network requirements for regulation of metabolic gene expression to a desired state. *Sci. Rep.* 2013. V. 3. P. 1417. doi:10.1038/srep01417.

100. Li C., Donizelli M., Rodriguez N., Dharuri H., Endler L., Chelliah V., Li L., He E., Henry A., Stefan M.I. *et al.* BioModels Database: An enhanced, curated and annotated resource for published quantitative kinetic models. *BMC Syst. Biol.* 2010. V. 4. P. 92.
101. Lloyd C.M., Lawson J.R., Hunter P.J., Nielsen P.F. The CellML Model Repository. *Bioinformatics.* 2008. V. 24. № 18. P. 2122–2123.
102. Olivier B.G. and Snoep J.L. Web-based kinetic modelling using JWS Online. *Bioinformatics.* 2004. V. 20. P. 2143–2144.
103. Sivakumaran S., Hariharaputran S., Mishra J., Bhalla U.S. The Database of Quantitative Cellular Signaling: management and analysis of chemical kinetic models of signaling networks. *Bioinformatics.* 2003. V. 19. P. 408–415.
104. Moutselos K., Kanaris I., Chatziioannou A., Maglogiannis I., Kolisis F.N. KEGGconverter: a tool for the in-silico modelling of metabolic networks of the KEGG Pathways database. *BMC Bioinformatics.* 2009. V. 10. P. 324.
105. Rojas I., Golebiewski M., Kania R., Krebs O., Mir S., Weidemann A., Wittig U. SABIO-RK: a database for biochemical reactions and their kinetics. *BMC Syst. Biol.* 2007. V. 1. P. S6.
106. Forster A.C. and Church G.M. Towards synthesis of a minimal cell. *Mol. Syst. Biol.* 2006. V. 2. № 1. doi:10.1038/msb4100090.
107. Stanó P. Advances in minimal cell models: A new approach to synthetic biology and origin of life. In: *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering – From Analysis and Modeling to Technology Applications*. Ed. A. Rijeka, Croatia: Carpi. Intech – Open Access Publisher, 2011. P. 23–44.
108. Noble D. Modeling the heart from genes to cells to the whole organ. *Sci. Signal.* 2002. V. 295. № 5560. P. 1678.
109. Lewis N.E., Schramm G., Bordbar A., Schellenberger J., Andersen M.P., Cheng J.K., Patel N., Yee A., Lewis R.A., Eils R., König R., Palsson B.Ø. Formulating multicellular models of metabolism in tissues: application to energy metabolism in the human brain. *Nat. Biotechnol.* 2010. V. 28. № 12. P. 1279.
110. Gardner T.S., Cantor C.R., Collins J.J. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature.* 2000. V. 403. № 6767. P. 339–342.
111. Tchuraev R.N., Stupak I.V., Tropynina T.S., Stupak E.E. Epigenes: design and construction of new hereditary units. *FEBS letters.* 2000. V. 486. № 3. P. 200.
112. Hasty J., Dolnik M., Rottschäfer V., Collins, J. J. Synthetic gene network for entraining and amplifying cellular oscillations. *Phys. Rev. Letters.* 2002. V. 88. № 14. P. 148101.
113. Atkinson M.R., Savageau M.A., Myers J.T., Ninfa A.J. Development of Genetic Circuitry Exhibiting Toggle Switch or oscillatory behavior in *Escherichia coli*. *Cell.* 2003. V. 113. № 5. P. 597–607.
114. Feng X.J., Hooshangi S., Chen D., Li G., Weiss R., Rabitz H. Optimizing genetic circuits by global sensitivity analysis. *Biophys. J.* 2004. V. 87. № 4. P. 2195–2202.
115. Golubyatnikov V., Likhoshvai V., Fadeev S., Matushkin Yu., Ratushny A., Kolchanov N. Mathematical and Computer modeling of genetic networks. In: *Proceedings of the 6-th International Conference Human and Computer (HC-2003)*. Japan: University of Aizu, 2003. P. 200–205.
116. Reich J.G., Sel'kov E.E. Mathematical analysis of metabolic networks. *FEBS Letters.* 1974. V. 40. P. S119–S127.
117. Иваницкий Г.Р., Кринский В.И., Сельков Е.Е. *Математическая биофизика клетки*. Наука, 1978. 156 с.
118. Sel'kov E. On the mechanism of single-frequency self-oscillations in glycolysis. I. A simple kinetic model. *Eur. J. Biochem.* 1968. V. 4. № 1. P. 79–86.
119. Shevelev E.L., Sel'kov E. E. Concentration hierarchy in the mathematical model of fructose-2,6-bisphosphate exchange. *Mol. Biol.* 1988. V. 22. № 2. P. 459–465.

120. Попова СВ. и Сельков Е.Е. Регуляторные обратимые ферментативные реакции. Теоретический анализ. *Мол. биол.* 1978. Т. 12. С. 1139–1151.
121. Sel'kov E., Basmanova S., Gaasterland T., Goryanin I., Gretchkin Y., Maltsev N., Nenashev V., Overbeek R., Panyushkina E., Pronevitch L., Selkov Jr E., Yunus I. The Metabolic Pathway Collection from EMP: The Enzymes and Metabolic Pathways Database. *Nucl. Acids Res.* 1996. V. 24. № 1. P. 26–28.
122. Sel'kov E.Jr., Grechkin Y., Mikhailova N., Sel'kov E. MPW: the Metabolic Pathways Database. *Nucl. Acids Res.* 1998. V. 26. № 1. P. 43–45.
123. Demin O.V., Goryanin I.I., Dronov S., Lebedeva G.V. Kinetic model of imidazolglycerol-phosphate synthetase from *Escherichia coli*. *Biochemistry (Mosc)*. 2004. V. 69. № 12. P. 1324–1335.
124. Demin O.V., Plyusnina T. Y., Lebedeva G. V., Zobova E.A., Metelkin E.A., Kolupaev A.G., Goryanin I.I., Tobin F. Kinetic modelling of the *E. coli* metabolism. In: *Systems Biology*. Springer Berlin Heidelberg, 2005. P. 31–67.
125. Peskov K., Goryanin I., Prank K., Tobin F., Demin O. Kinetic modeling of *ace* operon genetic regulation in *Escherichia coli*. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2008. V. 5. P. 933–959.
126. Peskov K., Mogilevskaya E., Demin O. Kinetic modelling of central carbon metabolism in *Escherichia coli*. *FEBS J.* 2012. V. 279. № 18. P. 3374–3385.
127. Метелкин Е., Лебедева Г., Горянин И., Демин О. Кинетическая модель *beta*-галактозидазы *Escherichia coli*. *Биофизика*. 2009. Т. 54. С. 226–234.
128. Ратнер В.А. *Генетические системы управления*. Новосибирск: Наука, 1966.
129. Belova O.E., Likhoshvai V.A., Bazhan S.I., Kulichkov V.A. Computer system for investigation and integrated description of molecular-genetic system regulation of interferon induction and action. *Comput. Appl. Biosci.* 1995. V. 11. № 2. P. 213–218.
130. Ратушный А.В., Лихошвай В.А., Игнатъева Е.В., Матушкин Ю.Г., Горянин И.И., Колчанов Н.А. Компьютерная модель генной сети регуляции биосинтеза холестерина в клетке: анализ влияния мутаций. *Докл. Акад. Наук*. 2003. Т. 389. С. 90–93.
131. Akberdin I.R., Ozonov E.A., Mironova V.V., Omelyanchuk N. A., Likhoshvai V. A., Gorpichenko D. N., Kolchanov N. A. A cellular automation to model the development of primary shoot meristems of *Arabidopsis thaliana*. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2007. V. 5. № 2b. P. 641–650.
132. Oshchepkova-Nedosekina E.A. and Likhoshvai V.A. A mathematical model for the adenylosuccinate synthetase reaction involved in purine biosynthesis. *Theor. Biol. Med. Model.* 2007. V. 4. P. 11.
133. Акбердин И.Р., Казанцев Ф.В., Омелянчук Н.А., Лихошвай В.А. Математическое моделирование метаболизма ауксина в клетке меристемы побега растения. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2009. Т. 13. С. 170–176.
134. Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Yosiphon G., Fadeev S. I., Kolchanov N. A., Mjolsness E., Likhoshvai V. A. How acropetal auxin flow determines cell fate specification along the central axis in root development. *BMC Syst. Biol.* 2010. V. 4. P. 98.
135. Лихошвай В.А., Хлебодарова Т.М. Согласование темпов роста объема клетки и репликации ДНК: математическая модель. *Матем. биология и биоинформ.* 2013. Т. 8. № 1. С. 66–92.
136. Хлебодарова Т.М. Когай В.В., Акбердин И.Р., Фадеев С.И., Ри Н.А., Лихошвай В.А. Моделирование утилизации нитрита клетками *Escherichia coli*: анализ потоков. *Матем. биология и биоинформ.* 2013. Т. 8. № 1. С. 268–286.
137. Чураев Р.Н., Ратнер В.А. Моделирование динамики системы управления развитием λ -фага. В: *Исследования по теоретической генетике*. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1975. С. 5–66.

138. Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Ратушный А.В., Ананько Е.А., Игнатъева Е.В., Подколотная О.В. Обобщенный химико-кинетический метод моделирования генных сетей. *Мол. Биол.* 2001. Т. 35. С. 1072–1079.
139. Likhoshvai V. and Ratushny A. Generalized Hill function method for modeling molecular processes. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2007. V. 5. № 2. P. 521–531.
140. Ратушный А.В., Лихошвай В.А., Ананько Е.А., Владимиров Н.В., Гунбин К.В., Лашин С.А., Недосекина Е.А., Николаев С.В., Омелянчук Л.В., Матушкин Ю.Г., Колчанов Н.А. Новосибирская школа системной компьютерной биологии: исторический экскурс и перспективы развития. *Вестник ВОГиС.* 2005. Т. 9. С. 232–261.
141. Лихошвай В.А., Казанцев Ф.В., Акбердин И.Р., Безматерных К.Д. *Программа автоматической генерации математических моделей генных сетей (МГСгенератор)*: авторское свидетельство №2008611941, апрель 2008а.
142. Казанцев Ф.В., Акбердин И.Р., Безматерных К.Д., Лихошвай В.А. Система автоматизированной генерации математических моделей генных сетей. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2009. Т. 13. С. 163–170.
143. Лихошвай В.А., Казанцев Ф.В., Акбердин И.Р., Безматерных К.Д., Лашин С.А., Подколотная Н.Н., Ратушный А.В. *Компьютерная система для конструирования, расчета и анализа моделей молекулярно-генетических систем (МГСмоделлер)*: авторское свидетельство №2008612820, июнь 2008б.
144. Ananko E.A., Podkolodny N.L., Stepanenko I.L., Podkolodnaya O. A., Rasskazov D.A., Miginsky D.S., Likhoshvai V.A., Ratushny A.V., Podkolodnaya N.N., Kolchanov N.A.. GeneNet in 2005. *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 1. № 33. P. 425–427.
145. Лахно В., Назипова Н., Ким В., Филиппов С., Фиалко Н., Устинин Д., Теплухин А., Тюльбашева Г., Зайцев А., Устинин М. Информационно-вычислительная среда Mathcell для моделирования живой клетки. *Матем. биология и биоинформ.* 2007. Т. 2. № 2. С. 361–376.

Материал поступил в редакцию 30.05.2013, опубликован 18.06.2013.