

*В. О. Миленина, А. К. Брянкина, А. А. Парамонова**

**ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАТЕМАТИЧЕСКОГО
МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ
МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ
В МАСШТАБЕ ГЕНОМА МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ**

Микроводоросли обладают потенциалом для производства различных продуктов, так как имеют большое количество метаболических путей. Однако для получения необходимого количества целевого продукта необходимо решить ряд проблем: обеспечить высокий выход желаемого вещества на стадии культивирования, подобрать экономически выгодные методы концентрирования и дезинтеграции клеток, выбрать наиболее экологичный и эффективный способ извлечения продукта из биомассы. Одной из главных проблем является подбор высокопродуктивного штамма с нужными характеристиками, который улучшит экономику последующих стадий получения продукта.

В настоящее время для повышения продуктивности штаммов микроводорослей изменяют условия культивирования, что не всегда приводит к улучшению результата. В связи с этим появились методы геной инженерии, которые помогают получить высокопродуктивный штамм. Однако перед проведением генетических манипуляций необходимо проанализировать метаболический путь, по которому идет образование целевого метаболита, так как с помощью случайного мутагенеза нельзя определить лимитирующий фактор и фермент, влияющие на биохимический процесс. Поэтому целью данного исследования является изучение возможности использования математического моделирования для реконструкции метаболических путей в масштабе генома микроводорослей.

* Работа выполнена под руководством д-ра техн. наук, профессора, заведующего кафедрой «Технологии и оборудование пищевых и химических производств» ФГБОУ ВО «ТГТУ» Д. С. Дворецкого.

Для анализа метаболических путей необходимо изучить ферменты, которые катализируют биохимические реакции, и исследовать гены, кодирующие эти ферменты.

Для определения генетической последовательности проводят процесс секвенирования.

Существуют несколько методов секвенирования, основными из которых являются: секвенирование по Сэнгеру, анализ фрагментов, секвенирование следующего поколения [1].

Однако далеко не всегда есть оборудование, необходимое для считывания генома, поэтому существуют специальные базы данных, которые можно использовать для моделирования и реконструкции математической модели метаболического пути.

К таким базам данных относятся: KEGG (содержит информацию о генах, белках, реакциях и метаболических путях), BioСус (содержит данные о более 20 000 метаболических путей/генома микроорганизмов), enzyme.exрасу (содержит информацию, относящуюся к номенклатуре ферментов) и т.д.

После получения необходимого количества информации строится математическая модель метаболического пути, которая в первом приближении будет далека от совершенства из-за большого разнообразия микроводорослей и их изменчивости. Далее проводится процесс корректировки модели, которая заключается в ее дополнении, выявлении несоответствий и получении более точной математической модели определенного метаболического пути.

Для построения математической модели метаболического пути и ее реконструкции используют несколько методов: метод разложения по сингулярным значениям, минимальное метаболическое поведение, анализ элементарного режима, динамическое моделирование и оценка параметров, синтетическая доступность и анализ баланса потоков.

Одним из наиболее перспективных методов математического моделирования метаболического пути является анализ баланса потоков (FBA), который вычисляет поток метаболитов через всю метаболическую сеть, тем самым позволяя прогнозировать скорость роста организма или скорость выработки биотехнологически важного метаболита. Этот метод направлен на поиск оптимального распределения метаболических потоков, максимизирующие (или минимизирующие) определенную целевую функцию [2].

Результаты FBA можно визуализировать с помощью карт потоков, на которых представлены стационарные потоки, переносимые реакциями гликолиза. Изображение «после» анализа балансов потоков

показывает оптимальный вариант потока от источника питательных веществ к функции биомассы в виде толщины линий, представляющих каждую реакцию [3].

С помощью FBA можно получить достаточный набор стационарных потоков, который оптимизирует заявленную цель, например, максимизацию производства биомассы в метаболической сети с учетом ряда ограничений сохранения массы. Как только этот набор стационарных потоков идентифицирован, методы оптимизации могут быть использованы для оценки производительности биологической системы при различных возмущениях, таких как различные клеточные цели или изменчивость наложенных ограничений [2].

Результирующие наборы потоков могут быть сравнены друг с другом и с экспериментальными данными, и в конечном счете совокупность возможных потоков может дать прогностические модели крупномасштабных биохимических сетей.

FBA не требует больших вычислительных затрат, для расчета оптимальных потоков для производства биомассы для типичной сети требуется порядка нескольких секунд (около 2000 реакций). Это означает, что эффект удаления реакций из сети и(или) изменения ограничений потока может быть разумно смоделирован на одном компьютере.

Однако использование данного метода для микроводорослей с большим количеством биохимических реакций приводит к недоопределенным формулировкам проблемы. Следовательно, при создании математической модели с помощью FBA необходимо исследовать диапазоны значений потоков каждой реакции, которые согласуются с изучаемыми физиологическими условиями. Чем шире заявленные диапазоны потоков, тем выше неопределенность в определении основных свойств реакции, что ограничивает интерпретируемость и достоверность результатов [4].

Таким образом, для получения информации о метаболических путях микроводорослей необязательно проводить секвенирование, можно использовать метод моделирования и реконструкции метаболических путей в масштабе генома, используя анализ баланса потоков. Однако при создании такой модели возникает сложность из-за нехватки геномных ресурсов, что связано с большим таксономическим и генетическим разнообразием микроводорослей. Кроме того, анализ баланса потоков моделирует метаболизм в стационарном режиме и не учитывает кинетику или изменения условий. Интеграция анализа баланса потоков с дополнительными методами анализа данных и моделирования, возможно, поможет преодолеть эти проблемы.

Список литературы

1. Heather, J. M. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA / J. M. Heather, B. Chain // *Genomics*. – 107 (2016). – 1 – 8.
2. Orth, J. D. What is flux balance analysis? / J. D. Orth, I. Thiele, B. Palsson // *Nature Biotechnology*. – 28 (2010). – 245 – 248.
3. Forth, T. *Metabolic Systems Biology of the Malaria Parasite* / T. Forth // Leeds, UK: University of Leeds. – 2012.
4. *Advances in Flux Balance Analysis by Integrating Machine Learning and Mechanism-based Models* / A. Saha, M.-A. Blatka, J. J. Szymanska, Nadine Topfer // *Journal Pre-proofs*. – 19 (2021). – 1 – 29.