

doi 10.18699/vjgb-24-97

Программный модуль для оценки метаболического потенциала мутантных штаммов бактерии *Corynebacterium glutamicum*

Ф.В. Казанцев ^{1, 2, 3} , М.Ф. Трофимова², Т.М. Хлебодарова^{1, 2}, Ю.Г. Матушкин ^{1, 2, 3}, С.А. Лашин ^{1, 2, 3}

¹ Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

 kazfdr@bionet.nsc.ru

Аннотация. Технологии производства различных соединений с применением микроорганизмов приобретают все большую популярность в промышленном производстве. Создание современных высокопродуктивных штаммов, метаболизм которых ориентирован на синтез конкретного целевого продукта, невозможно без комплексной направленной модификации генома с применением методов математического и компьютерного моделирования. Одним из видов бактерий, активно используемых в биотехнологическом производстве, является *Corynebacterium glutamicum*. Для него существует уже пять полногеномных потоковых моделей, которые можно использовать для задач исследования и оптимизации метаболизма. В работе представлен программный модуль развиваемого в Институте цитологии и генетики СО РАН инструмента FluxMicrobiotech, в рамках которого реализована серия вычислительных протоколов, предназначенных для массового компьютерного анализа потоковых моделей *C. glutamicum* на высокопроизводительных вычислительных компьютерах. Программный модуль реализован на языке Python с применением библиотек Pandas, cobraPy и Escher и настроен на работу по принципу «файл на вход/файл на выход». Модель, условия среды и ограничения модели задаются как отдельные текстовые табличные файлы, что позволяет заготовить серию файлов для каждого из разделов, создавая базы доступных сценариев испытаний для вариаций модели. Или, наоборот, позволяет испытывать одну модель в серии разных условий культивирования. Настроены инструменты постобработки данных моделирования, обеспечивающие визуализацию сводных диаграмм и метаболических карт.

Ключевые слова: потоковые модели; метаболизм бактерии; оптимизация метаболизма; рациональная метаболическая инженерия.

Для цитирования: Казанцев Ф.В., Трофимова М.Ф., Хлебодарова Т.М., Матушкин Ю.Г., Лашин С.А. Программный модуль для оценки метаболического потенциала мутантных штаммов бактерии *Corynebacterium glutamicum*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2024;28(8):897-903. doi 10.18699/vjgb-24-97

Финансирование. Работа поддержана проектом Курчатовского геномного центра ИЦиГ СО РАН № 075-15-2019-1662.


A software module to assess the metabolic potential of mutant strains of the bacterium *Corynebacterium glutamicum*

F.V. Kazantsev ^{1, 2, 3} , M.F. Trofimova², T.M. Khlebodarova^{1, 2}, Yu.G. Matushkin ^{1, 2, 3}, S.A. Lashin ^{1, 2, 3}

¹ Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 kazfdr@bionet.nsc.ru

Abstract. Technologies for the production of a range of compounds using microorganisms are becoming increasingly popular in industry. The creation of highly productive strains whose metabolism is aimed to the synthesis of a specific desired product is impossible without complex directed modifications of the genome using mathematical and computer modeling methods. One of the bacterial species actively used in biotechnological production is *Corynebacterium glutamicum*. There are already 5 whole-genome flux balance models for it, which can be used for metabolism research and optimization tasks. The paper presents fluxMicrobiotech, a software module developed at the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, which implements a series of computational protocols designed for high-performance computer analysis of *C. glutamicum* whole-genome flux balance models. The tool is based on libraries from the opencobra community (<https://opencobra.github.io>) within the Python programming language (<https://www.python.org>), using the Pandas (<https://pandas.pydata.org>) and Escher (<https://escher.readthedocs.io>) libraries. It is configured to operate on a 'file-in/file-out' basis. The model,

environmental conditions, and model constraints are specified as separate text table files, which allows one to prepare a series of files for each section, creating databases of available test scenarios for variations of the model. Or vice versa, allowing a single model to be tested under a series of different cultivation conditions. Post-processing tools for modeling data are set up, providing visualization of summary charts and metabolic maps.

Key words: flux models; bacterial metabolism; metabolic optimization; rational metabolic engineering.

For citation: Kazantsev F.V., Trofimova M.F., Khlebodarova T.M., Matushkin Yu.G., Lashin S.A. A software module to assess the metabolic potential of mutant strains of the bacterium *Corynebacterium glutamicum*. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(8):897-903. doi 10.18699/vjgb-24-97

Введение

Технологии производства различных соединений с применением микроорганизмов приобретают все большую популярность в промышленном производстве. Создание современных высокопродуктивных штаммов микроорганизмов, метаболизм которых ориентирован на синтез конкретного целевого продукта, невозможно без комплексной направленной модификации генома. К настоящему времени разработан широкий спектр методов рациональной и системной метаболической инженерии для увеличения продукции целевых веществ (Sheremetieva et al., 2023; Шереметьева и др., 2024), использование которых совместно с подходами компьютерного моделирования позволит проводить более точные оценки влияния изменений генома на динамику системы и выход конечного продукта (Ananda et al., 2024). Реализация в рамках компьютерных платформ методов потокового математического моделирования молекулярно-генетических и метаболических систем (Mendoza et al., 2019; Mao et al., 2023) и создание полногеномных потоковых моделей позволяют *in silico* предсказывать генетические модификации, необходимые для увеличения скорости роста культуры, выхода целевого продукта при росте культуры в оптимальных условиях и в зависимости от различных субстратов (Gu et al., 2019; Mao et al., 2023).

Один из видов бактерий, активно используемых в биотехнологическом производстве, – *Corynebacterium glutamicum*. С момента открытия в 1956 г. (Kinoshita et al., 1957) и до сих пор основной сферой применения этого вида бактерий остается производство аминокислот и их производных (Tsuge, Matsuzawa, 2021), которое сегодня является вторым по экономической значимости процессом в промышленной биотехнологии (Barcelos et al., 2018). *C. glutamicum* – это непатогенные, GC-богатые грамположительные почвенные бактерии. Они не образуют спор, быстро растут, не требуют специальных условий для роста, не секретируют протеазы, имеют относительно стабильный геном и устойчивы к высоким концентрациям потенциально токсичных веществ, что делает этот микроорганизм идеальной платформой для разработки на его основе промышленно значимых штаммов-продуцентов (Wendisch et al., 2016).

Основные подходы по модификации генома биотехнологически значимых штаммов бактерий включают: 1) нокауты (выключение) генов; 2) встройки дополнительных генов, ведущих к созданию новых метаболических цепочек реакций; 3) введение мутаций как в регуляторные районы генов, так и в структуру генов с целью уменьшения/увеличения экспрессии генов и активности их продуктов соответственно; 4) другие современные методы

редактирования генома *C. glutamicum*, без которых невозможно осуществление большого числа направленных модификаций, необходимых для реализации подходов рациональной и системной метаболической инженерии (Sheremetieva et al., 2023; Шереметьева и др., 2024). Эффективное планирование, осуществление и контроль проведения таких модификаций затруднительны без использования методов математического и компьютерного моделирования.

Настоящая работа посвящена разработке программного модуля в рамках развиваемого в Институте цитологии и генетики СО РАН инструментария FluxMicrobiotech для оценки метаболического потенциала бактерии методами потокового моделирования, включающего серию вычислительных протоколов, настроенных на массовый компьютерный анализ метаболизма целевых штаммов бактерий при культивировании на разных питательных средах и в различных условиях среды (аэробных/анаэробных).

Материалы и методы

Разработанные вычислительные протоколы основаны на открытой библиотеке методов потокового моделирования opencobra (<https://opencobra.github.io>) в рамках языка программирования Python (<https://www.python.org/>). Протоколы оформлены как «блокноты» в среде программирования Jupyter (<https://jupyter.org/>). Такая организация позволяет чередовать вычислительные блоки с этапами анализа результатов. Подход организации вычислений через «блокноты» стал привычным инструментом в методологии анализа больших данных, подразумевающим создание вычислительных конвейеров и регулярную подстройку их под меняющиеся условия задачи. Контроль корректности применения достигается развитым инструментарием по оформлению комментариев к блокам кода этапов вычислений. Для решения оптимизационных задач используются библиотека cobraPy (<https://opencobra.github.io/cobrapy/>) и библиотека Pandas (<https://pandas.pydata.org/>). Для первичной визуализации генных сетей – приложение yEd Graph Editor (<https://yworks.com/products/yed>). Создание метаболических карт и отображение решений на них при моделировании осуществляются в инструментарии Escher (<https://escher.github.io/>). Разработанные протоколы поддерживают методы высокопроизводительных вычислений и требуют памяти для хранения результатов. Таким образом, рекомендуется проводить работы на высокопроизводительных вычислительных компьютерах.

Методы потокового моделирования, или Flux Balance Analysis (FBA в англоязычной литературе), используемые в данной работе, относятся к разделу задач линейного программирования. Именно для решения задач исследова-

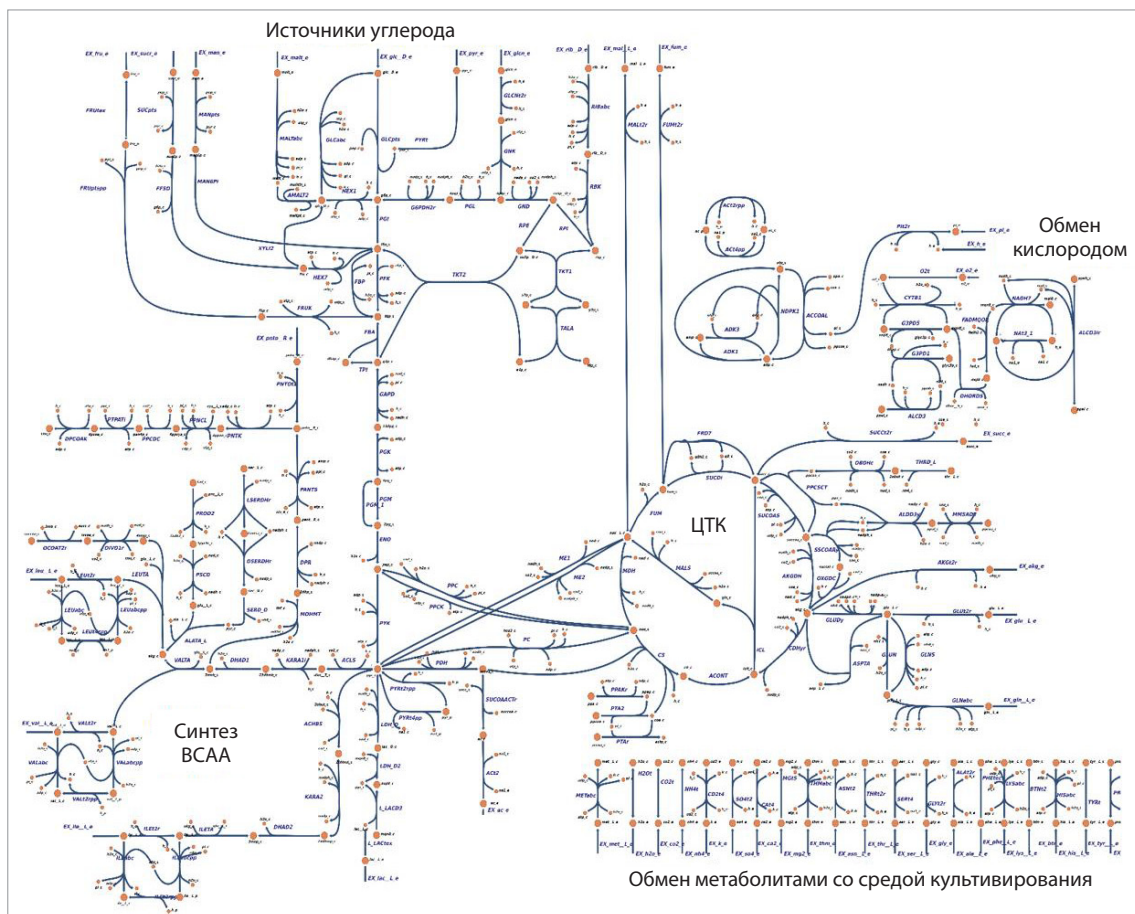


Рис. 1. Метаболическая карта, ориентированная на отображение путей синтеза аминокислот с разветвленной боковой цепью (ВСАА).

Визуализация выполнена в инструменте Escher как расширенная сеть из модели iCGB21FR.

ния метаболизма в рамках сообщества *orencobra* (<https://orencobra.github.io>) развивается серия вычислительных библиотек методов FBA. Основа этой методологии – представление метаболического пути в виде графа, заданного матрицей смежности, строки которой соответствуют метаболитам, а столбцы – метаболическим реакциям и процессам. Элементы матрицы – стехиометрические коэффициенты, задающие пропорцию метаболита и его роль в выбранной реакции (реагент или продукт реакции). Подобные матрицы можно строить вручную, скрупулезно описывая целевые метаболические пути, или автоматически, генерируя матрицу по геномной информации. На базе хорошо аннотированного секвенированного генома бактерии с использованием различных биоинформатических инструментов можно выявить потенциальные метаболические пути и возможности бактерии к синтезу целевых метаболитов. Именно эта информация обрабатывается программными инструментами по генерации полногеномных потоковых моделей (GSM, genome-scale metabolic models in англоязычной литературе) (Machado et al., 2018; Kulyashov et al., 2023).

Построенная вышеупомянутым образом потоковая модель является отправной точкой в задачах оценки метаболизма бактерии и может содержать несколько тысяч реакций, описывающих полный набор функционально-

сти, доступный в геноме. Существует база данных BiGG Models (<http://bigg.ucsd.edu/>), которая позиционируется как центральная точка хранения и повторного использования моделей. Данный ресурс содержит крупнейшую коллекцию полногеномных математических моделей, разработанных для разных организмов, и в дополнение развивается и как база эталонных биохимических реакций для такого рода моделей. В рамках BiGG параллельно развивается инструмент визуализации метаболических сетей Escher (King et al., 2015), что позволяет повторно применять одни и те же метаболические карты для моделей разных организмов. В базе BiGG содержатся 108 опубликованных и вручную проверенных полногеномных моделей метаболизма для 40 разных организмов (Norsigian et al., 2019).

Таким образом, связка из данных генома, инструментов построения и аннотации полногеномных потоковых моделей, интеграция их в рамках подхода BiGG дают основу для высокопроизводительного компьютерного анализа метаболизма бактерий. Несмотря на то что модель является полногеномной, при отображении метаболической карты в виде графа используют некоторое подмножество реакций – метаболические пути ключевых метаболитов (рис. 1), подразумевая, что не включенные в визуализацию пути также участвуют в анализе.

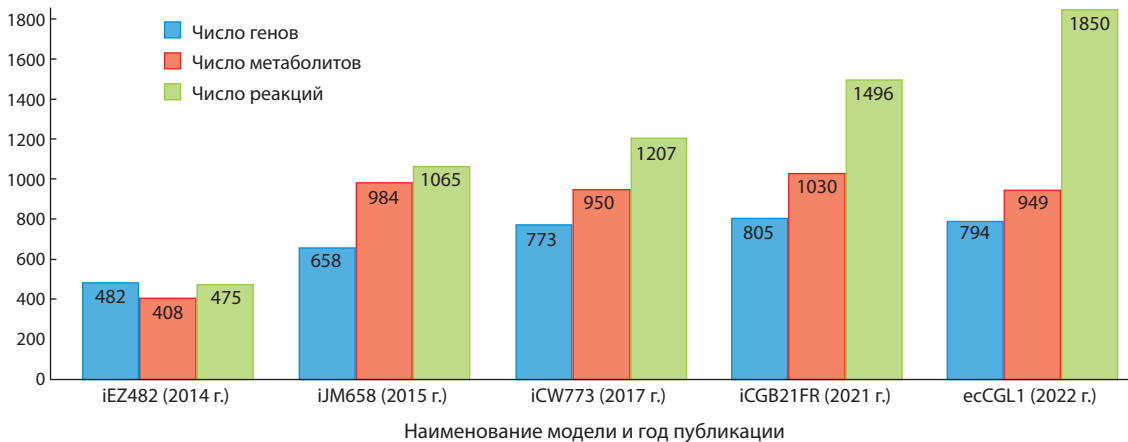


Рис. 2. Математические модели, описывающие метаболизм бактерии *C. glutamicum*, и их основные метрики.

Результаты

Потоковая модель *Corynebacterium glutamicum*

К настоящему времени создано и опубликовано несколько математических моделей, описывающих метаболизм бактерии *C. glutamicum*: iEZ482, iCW773, iCGB21FR, ecCGL1, iJM658 (Kjeldsen, Nielsen, 2009; Zelle et al., 2015; Mei et al., 2016; Zhang et al., 2017; Feierabend et al., 2021; Niu et al., 2022). Эти модели построены на основе полногеномных данных и были верифицированы на экспериментальных данных по росту бактерий, способности синтеза аминокислот на разных источниках углерода и при разных условиях среды культивирования. Модели использовались для анализа продукции глутамата (Mei et al., 2016; Feierabend et al., 2021), изолейцина (Zhang et al., 2017) и лизина (Kjeldsen, Nielsen, 2009; Zhang et al., 2017; Niu et al., 2022).

Модель iEZ482 была представлена в 2015 г. и описывает метаболизм штамма ATCC 13032. Она содержит 475 метаболических реакций и 408 метаболитов. Валидация модели проводилась авторами на основе экспериментальных данных по способности секреции 20 аминокислот. Модель iCW773, опубликованная в 2017 г., содержит уже 1207 реакций и 950 метаболитов. На базе iCW773 в 2022 г. была опубликована модель ecCGL1. Она представляет собой математическое описание метаболизма бактерии *C. glutamicum* штамма ATCC 13032 с ферментативными ограничениями, в котором задаются не только метаболиты и реакции, но также отдельно выносятся ограничения на максимальную концентрацию ферментов в бактерии. Модель iJM658 построена для штамма S9114. Опубликована в 2016 г. и содержит 658 генов, 984 метаболита и 1065 реакций. Дальнейшее развитие полногеномного моделирования для *C. glutamicum* ATCC 13032 привело к созданию модели iCGB21FR, вышедшей в 2021 г. Модель содержит 1496 реакций, 1030 метаболитов, 805 генов и три компартмента: внеклеточное пространство, цитозоль и периплазму. Валидация модели была осуществлена авторами на метаболизме L-глутамата, который, в свою очередь, является предшественником синтеза ряда аминокислот. Сводные характеристики найденных моделей представлены на рис. 2.

Именно модель iCGB21FR была выбрана нами в качестве базовой для настройки вычислительных протоколов, построения карт метаболизма и инструментов постобработки данных, так как она наиболее полно и актуально на данный момент описывает метаболизм бактерии *C. glutamicum*. Кроме того, она может служить эталоном аннотации моделей, поскольку закрывает большую часть рекомендательных пунктов в стандарте оформления моделей системной биологии, включая ссылки на существующие банки данных и онтологии. Модель iCGB21FR находится в свободном доступе в базе данных BioModels (<https://www.ebi.ac.uk/biomodels>, идентификатор MODEL2102050001). Демонстрирует возможность «роста биомассы» бактерии на разных источниках углерода при аэробных и анаэробных условиях на трех различных средах культивирования: минимальная среда M9, минимальная среда CGXII и полная среда лизогенного бульона (LB). Данные условия отличаются количеством и качеством (наличие дополнительных источников углерода или аминокислот) метаболитов, которые модель может потреблять из среды культивирования для переработки в продукты метаболизма.

Вычислительные протоколы

Разработанный программный модуль содержит в себе серию основных вычислительных сценариев, поток данных в которых схематично представлен на рис. 3. Это подготовленный блокнот Jupyter lab, в котором выставлены параметры вычислений.

Стартовые условия у всех протоколов одни. Необходимо задать:

- 1) потоковую модель (*.json файл), которая описывает базовую структуру и ограничения модели. Эту модель можно получить из баз данных BiGG или создать с помощью программного инструментария cobraPy;
- 2) параметры среды культивирования как табличный текстовый файл (*.csv);
- 3) дополнительные ограничения на потоки модели как табличный текстовый файл (*.csv).

Далее, в зависимости от решаемой задачи, настраиваются параметры вычислений. Jupyter lab блокнот как вычислительный протокол позволяет в случае необходимости

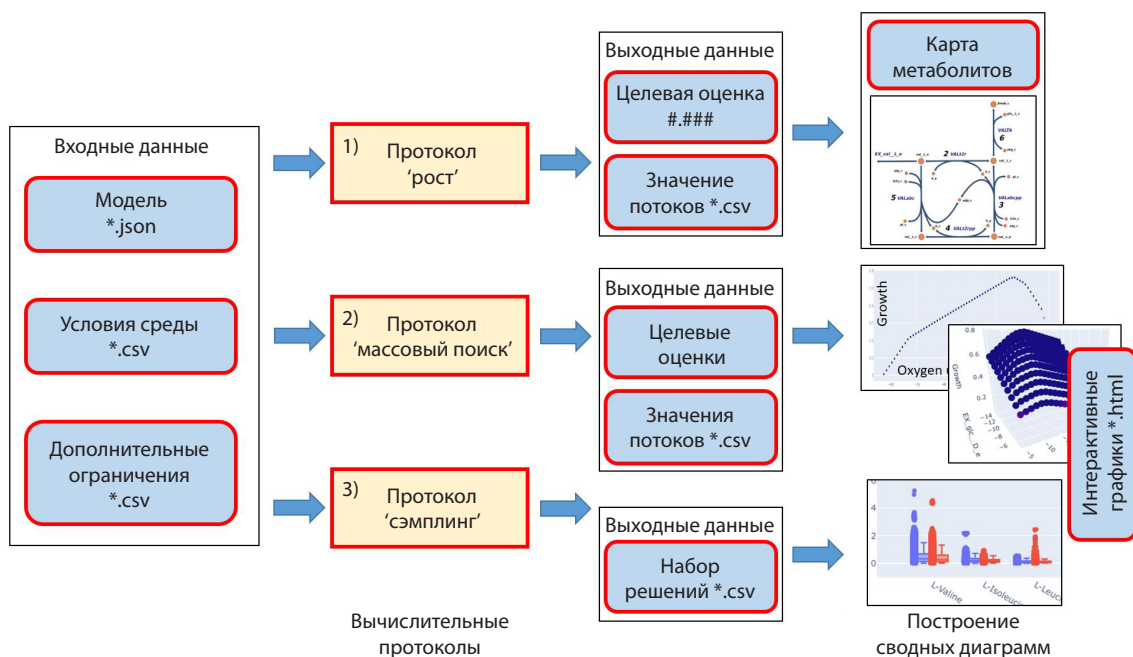


Рис. 3. Схема движения данных вычислительных протоколов.

оперативно модифицировать каждый блок вычислений. В итоге вычислительный протокол задается фактически через набор файлов: модель, среда культивирования, дополнительные ограничения. Это обеспечивает возможность заготовить серию файлов для каждого из разделов, создавая базы доступных сценариев испытаний для вариаций модели или, наоборот, испытывая одну модель в серии разных условий культивирования.

Результат работы протокола – вектор результирующих скоростей по всей структуре модели (или набор таких векторов в виде прямоугольной матрицы). Для задач постобработки данных настроен инструментарий по их отображению как в виде результирующих диаграмм, так и в виде визуализации потоков на метаболической карте (см. рис. 1). Экспорт в виде серии интерактивных метаболических карт сделан с помощью инструментария Escher (<https://escher.readthedocs.io>).

Сценарий оценки выхода биомассы

Большую роль в биотехнологическом производстве играет среда культивирования бактерий. Среда может быть как минимального биохимического состава, так и богатые на аминокислоты, благодаря чему бактерия может не тратить внутренние ресурсы на синтез аминокислот и других метаболитов, а потреблять их из среды. Для оценки параметров метаболизма штаммов с помощью моделирования необходимо как можно более точно задавать условия культивирования.

Первой проверкой адекватности модели является ее способность предсказать рост биомассы на заданных субстратах в соответствии с экспериментальными данными. Как правило, этот показатель несложно исследовать экспериментально: имеется много данных о скоростях роста штаммов и скоростях потребления субстрата или об отсутствии роста на выбранных источниках углерода. Сравне-

ние этих показателей – ключевой этап при базовой оценке модели на корректность. В частности, модель iCGB21FR тестировалась на полноту на нескольких средах на способность синтеза аминокислот и в аэробных, и в анаэробных условиях. Меняя условия среды культивирования, можно оценить лимитирующие субстраты в реакции наработки биомассы. Этот сценарий подходит и для оценки способности достичь выбранной/выбранных реакций при заданных условиях среды культивирования. То есть можно проверить достаточность метаболитов в среде для потенциального прохождения целевых метаболических реакций.

Сценарий оценки оптимизации пространства допустимых решений

Предыдущий сценарий проверял осуществление целенаправленных путей от точки поглощения субстратов до конкретных метаболических реакций. Следующим аспектом исследования таких моделей является оценка способности бактерии работать в заданных режимах, т. е. способность в принципе синтезировать серию метаболитов на заданном субстрате при условии наложенных ограничений. В этой работе помогают методы оценки допустимого пространства решений – сэмплинг. Решение в методе «сэмплинг» – это вектор скоростей потоков через все метаболические реакции, который удовлетворяет условиям баланса и наложенным пользователем ограничениям на границы выбранных скоростей реакций. В отличие от метода анализа баланса потоков, сэмплинг генерирует множество допустимых возможных решений системы реакций в модели без указания целевых характеристик, что делает этот метод удобным для оценки путей оптимизации реакций (Herrmann et al., 2019).

Для более точного представления о пространстве возможных решений требуется генерировать достаточно большое количество выборок, размерами в десятки/сотни

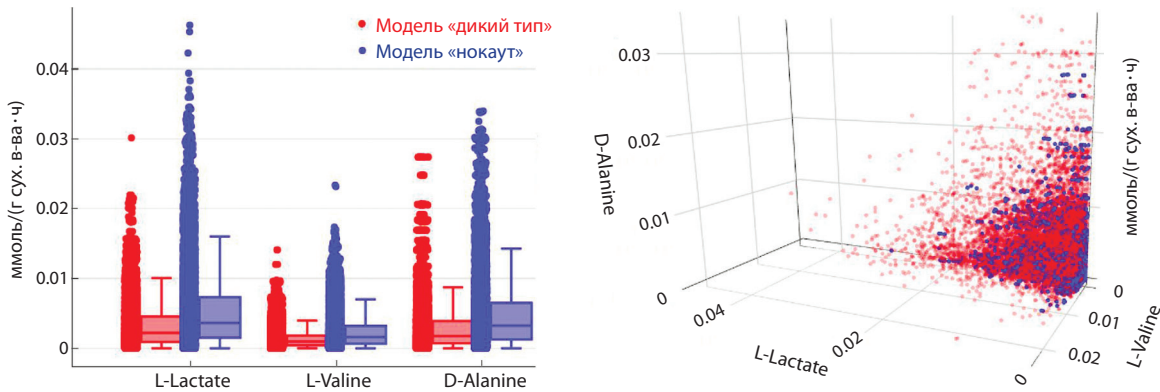


Рис. 4. Результат сравнения двух вариантов модели iCGB21FR: базовой («дикий тип») и модели «нокаут», где введен нокаут гена периплазматической АТФ-синтазы (*atpB*).

Слева – отображение значений скорости экскреции лактата, валина и аланина; справа – отображение этих же значений в одном трехмерном пространстве (проекция 10 тыс. точек решений на оси L-valine (валин), D-alanine (аланин) и L-lactate (лактат)). Скорости потоков реакций в модели выражаются в ммоль на грамм сухого вещества биомассы в час (ммоль/(г сух. в-ва · ч)).

тысяч точек пространства решений (принимая во внимание, что каждая точка в этом пространстве описывается сотнями или даже тысячами численных значений скоростей потоков). В результате можно получить множество точек в пространстве решений, которые могут указывать на наиболее часто встречающиеся решения при заданных условиях. Метод равномерно выбирает точки, покрывая пространство решений. Отображая точки на координаты целевых скоростей, можно получить предполагаемое распределение значений. Таким образом, мы получаем не конкретное распределение потоков на метаболической карте, а серию решений (серию результирующих потоков/облако точек). Каждую точку этой серии решений можно отобразить на оси скоростей выбранных реакций метаболической сети. Этот подход позволяет сравнивать распределение потоков как нескольких моделей в одних условиях, так и одной модели в разных условиях/ограничениях (рис. 4).

В частности, в рамках серии вычислительных экспериментов по влиянию нокаутов генов на экскрецию метаболитов был обнаружен ген *atpB*, продукт синтеза которого участвует в реакции фосфорилирования АТФ (см. рис. 4). Наименование гена в терминах базы данных KEGG – *cg1362*. Нокаут *atpB* обеспечивает потенциально большую экскрецию L-валина. Косвенным подтверждением важности этого гена служит работа, в которой показано (Jensen et al., 1993), что мутации в опероне АТФ-синтаз в *Escherichia coli* могут приводить к более высокой скорости роста на глюкозе.

Запуск расчетов на 10 тыс. решений/точек выдает около 200 Мб данных за один запуск. Вычисления и постобработка таких данных должны осуществляться на высокопроизводительных вычислительных машинах.

Заключение

В крупнейшей базе полногеномных моделей BiGG (<http://bigg.ucsd.edu/models>) выложено 108 моделей для 40 разных организмов. При этом мы нашли пять полногеномных математических моделей по *C. glutamicum*, что говорит о большом интересе к объекту. Сама методология нахо-

дится на этапе становления, и требуется под каждый новый объект настраивать инструменты вручную, что дает большое пространство для развития математического и компьютерного аппарата моделирования в рамках сообщества системных биологов/рациональных метаболических инженеров. Сейчас идут исследования по внедрению в такие модели транскриптомных и протеомных данных, что ведет к более высокой предсказательной способности по сравнению с более простыми потоковыми моделями.

Несмотря на то что *C. glutamicum* изучают с 1956 г. (Kinoshita et al., 1957), собрать открытую информацию по штаммам бактерии – отдельная задача. Существует много штаммов, данные о которых являются коммерческой тайной и не могут находиться в открытом доступе. Развитие разработанных вычислительных конвейеров в перспективе позволит применить их для анализа метаболизма других штаммов.

Предложенный нами программный модуль в виде серии вычислительных протоколов настроен для массового компьютерного анализа моделей целевых штаммов *C. glutamicum* по культивированию на разных питательных средах и условиях среды (аэробных/анаэробных). Протоколы настроены на запуск по принципу «файл на вход/файл на выход», в рамках которого модель, условия среды и ограничения модели задаются как отдельные файлы. Настроены методы визуализации результатов моделирования, в частности по отображению данных на серии подготовленных пользователем метаболических карт. Особенности выполнения алгоритмов требуют применения высокопроизводительных вычислительных компьютеров и доступа к большим объемам хранилища данных. Модуль является частью развиваемого в ИЦиГ СО РАН инструмента FluxMicrobiotech.

Список литературы / References

Шереметьева М.Е., Хлебодарова Т.М., Дербииков Д.Д., Розанцева В.В., Колчанов Н.А., Яценко А.С. Системная метаболическая инженерия *Corynebacterium glutamicum* для продукции L-валина. *Биотехнология*. 2024;40(3):3-23. doi 10.56304/S0234275824030025

- [Sheremetieva M.E., Khlebodarova T.M., Derbikov D.D., Rozantseva V.V., Kolchanov N.A., Yanenko A.S. Systems metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* to create a producer of L-valine. *Biotechnologiya = Biotechnology*. 2024;40(3):3-23. doi 10.56304/S0234275824030025 (in Russian)]
- Ananda R., Daud K.M., Zainudin S. A review of advances in integrating gene regulatory networks and metabolic networks for designing strain optimization. *J. King Saud Univ. Comput. Inf. Sci.* 2024; 36(6):102120. doi 10.1016/j.jksuci.2024.102120
- Barcelos M.C.S., Lupki F.B., Campolina G.A., Nelson D.L., Molina G. The colors of biotechnology: general overview and developments of white, green and blue areas. *FEMS Microbiol. Lett.* 2018;365(21):fny239. doi 10.1093/femsle/fny239
- Feierabend M., Renz A., Zelle E., Nöh K., Wiechert W., Dräger A. High-quality genome-scale reconstruction of *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. *Front. Microbiol.* 2021;12:750206. doi 10.3389/fmicb.2021.750206
- Gu C., Kim G.B., Kim W.J., Kim H.U., Lee S.Y. Current status and applications of genome-scale metabolic models. *Genome Biol.* 2019; 20(1):121. doi 10.1186/s13059-019-1730-3
- Herrmann H.A., Dyson B.C., Vass L., Johnson G.N., Schwartz J.-M. Flux sampling is a powerful tool to study metabolism under changing environmental conditions. *NPJ Syst. Biol. Appl.* 2019;5(1):32. doi 10.1038/s41540-019-0109-0
- Jensen P.R., Michelsen O., Westerhoff H.V. Control analysis of the dependence of *Escherichia coli* physiology on the H⁺-ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993;90(17):8068-8072. doi 10.1073/pnas.90.17.8068
- King Z.A., Dräger A., Ebrahim A., Sonnenschein N., Lewis N.E., Palsson B.O. Escher: a web application for building, sharing, and embedding data-rich visualizations of biological pathways. *PLoS Comput. Biol.* 2015;11(8):e1004321. doi 10.1371/journal.pcbi.1004321
- Kinoshita S., Udaka S., Shimono M. Studies on the amino acid fermentation. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1957;3(3):193-205. doi 10.2323/jgam.3.193
- Kjeldsen K.R., Nielsen J. In silico genome-scale reconstruction and validation of the *Corynebacterium glutamicum* metabolic network. *Biotechnol. Bioeng.* 2009;102(2):583-597. doi 10.1002/bit.22067
- Kulyashov M.A., Kolmykov S.K., Khlebodarova T.M., Akberdin I.R. State-of-the-art constraint-based modeling of microbial metabolism: from basics to context-specific models with a focus on methanotrophs. *Microorganisms.* 2023;11(12):2987. doi 10.3390/microorganisms11122987
- Machado D., Andrejev S., Tramontano M., Patil K.R. Fast automated reconstruction of genome-scale metabolic models for microbial species and communities. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(15):7542-7553. doi 10.1093/nar/gky537
- Mao Z., Yuan Q., Li H., Zhang Y., Huang Y., Yang C., Wang R., Yang Y., Wu Y., Yang S., Liao X., Ma H. CAVE: a cloud-based platform for analysis and visualization of metabolic pathways. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(W1):W70-W77. doi 10.1093/nar/gkad360
- Mei J., Xu N., Ye C., Liu L., Wu J. Reconstruction and analysis of a genome-scale metabolic network of *Corynebacterium glutamicum* S9114. *Gene.* 2016;575(2):615-622. doi 10.1016/j.gene.2015.09.038
- Mendoza S.N., Olivier B.G., Molenaar D., Teusink B. A systematic assessment of current genome-scale metabolic reconstruction tools. *Genome Biol.* 2019;20(1):158. doi 10.1186/s13059-019-1769-1
- Niu J., Mao Z., Mao Y., Wu K., Shi Z., Yuan Q., Cai J., Ma H. Construction and analysis of an enzyme-constrained metabolic model of *Corynebacterium glutamicum*. *Biomolecules.* 2022;12(10):1499. doi 10.3390/biom12101499
- Norsigian C.J., Pusarla N., McConn J.L., Yurkovich J.T., Dräger A., Palsson B.O., King Z. BiGG Models 2020: multi-strain genome-scale models and expansion across the phylogenetic tree. *Nucleic Acids Res.* 2019;48(D1):D402-D406. doi 10.1093/nar/gkz1054
- Sheremetieva M.E., Anufriev K.E., Khlebodarova T.M., Kolchanov N.A., Yanenko A.S. Rational metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* to create a producer of L-valine. *Vavilov J. Genet. Breed.* 2023;26(8):743-757. doi 10.18699/VJGB-22-90
- Tsuge Y., Matsuzawa H. Recent progress in production of amino acid-derived chemicals using *Corynebacterium glutamicum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2021;37(3):49. doi 10.1007/s11274-021-03007-4
- Wendisch V.F., Jorge J.M.P., Pérez-García F., Sgobba E. Updates on industrial production of amino acids using *Corynebacterium glutamicum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2016;32(6):105. doi 10.1007/s11274-016-2060-1
- Zelle E., Nöh K., Wiechert W. Growth and production capabilities of *Corynebacterium glutamicum*: interrogating a genome-scale metabolic network model. In: Burkovski A. (Ed.) *Corynebacterium glutamicum: From Systems Biology to Biotechnological Applications*. Caister Acad. Press, 2015;39-56. doi 10.21775/9781910190050.04
- Zhang Yu, Cai J., Shang X., Wang B., Liu S., Chai X., Tan T., Zhang Yun, Wen T. A new genome-scale metabolic model of *Corynebacterium glutamicum* and its application. *Biotechnol. Biofuels.* 2017;10(1):169. doi 10.1186/s13068-017-0856-3

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 17.09.2024. После доработки 20.11.2024. Принята к публикации 21.11.2024.