

НОВОСИБИРСКАЯ ШКОЛА СИСТЕМНОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ БИОЛОГИИ: ИСТОРИЧЕСКИЙ ЭКСКУРС И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

**А.В. Ратушный, В.А. Лихошвай, Е.А. Ананько, Н.В. Владимиров,
К.В. Гунбин, С.А. Лашин, Е.А. Недосекина, С.В. Николаев,
Л.В. Омельянчук, Ю.Г. Матушкин, Н.А. Колчанов**

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, e-mail: ratushny@bionet.nsc.ru

Как известно, в 1961 г. Жакоб и Моно начали публикацию цикла своих знаменитых работ о механизмах генетической регуляции бактериальных генов. Первоначально были обнародованы результаты исследования особенностей регуляции экспрессии *lac* оперона *E.coli* (Jacob, Monod, 1961); позднее, в 1963 г., была опубликована работа тех же авторов, посвященная генетической репрессии, аллостерическому ингибированию и клеточной дифференцировке (Jacob, Monod, 1963). Эти работы, впоследствии отмеченные Нобелевской премией, оказали огромное стимулирующее влияние на начало теоретического исследования молекулярно-генетических систем во многих научных группах по всему миру.

Работы новосибирской школы математической биологии в области теоретического анализа молекулярно-генетических систем также были начаты на рубеже 1960-х гг. При этом основополагающее значение для рассмотрения проблемы имела фундаментальная монография В.А. Ратнера «Генетические системы управления» (1966), в которой были проанализированы общие особенности организации молекулярно-генетических систем управления прокариот. Исследования по теории молекулярно-генетических систем, порожденные этим начальным интеллектуальным импульсом, осуществлялись во все более возрастающих масштабах на протяжении последующих 40 лет несколькими поколениями ученых в ИЦиГ СО РАН, Новосибирском государственном университете, Институте молекулярной биологии (п. Кольцово) и в других связанных с ними организациях.

В настоящее время, когда постгеномные исследования концентрируются на проблемах системной биологии, теоретическое и компьютерное исследование молекулярно-генетических систем организмов приобретают особенное значение. В данной работе рассмотрены подходы к теоретическому и компьютерному анализу молекулярно-генетических систем, разработанные новосибирской школой системной компьютерной биологии. В контексте этого повествования также дается описание современного ландшафта теории молекулярно-генетических систем и некоторых наиболее значимых подходов и результатов, оказавших существенное влияние на развитие этой области, полученных в различных научных группах мира.

Введение

Для теоретического рассмотрения молекулярно-генетических систем (МГС) в настоящее время используются два основных подхода, один из которых основан на непрерывном, а второй – на дискретном описании их динамики. При этом на протяжении более 40 лет оба подхода развивались как параллельно, так и во взаимодействии. В конечном счете это привело к возникновению гибридных подходов, основанных на дис-

кретном описании одних процессов и непрерывном – других процессов, протекающих в пределах одной и той же МГС.

Моделирование в рамках непрерывного подхода использует принципы химической кинетики для описания процессов, протекающих в МГС (биохимических процессов, активного и пассивного переноса веществ и энергии, функционирования генов и т. п.). В условиях полного перемешивания эти процессы можно описывать на основе закона действующих масс, что в общем случае при-

водит к системам обыкновенных дифференциальных уравнений, в которых динамическими переменными являются концентрации соответствующих веществ. В середине 1960-х – начале 1970-х гг. был опубликован ряд работ с использованием этого подхода, в которых проанализированы модели молекулярного триггера (Simon, 1965), кинетики биосинтеза рибонуклеиновых кислот (Ruckenstein, Simon, 1966), белков (Simon, Ruckenstein, 1966), простейшая модель клеточного цикла (Simon, 1973). Своеобразие начального этапа становления теоретической биологии состояло в том, что в это время компьютерная техника была еще слабо развита, поэтому в основном проводился качественный анализ непрерывных моделей МГС, а в некоторых случаях численные расчеты проводились даже на аналоговых компьютерах.

Дискретные методы моделирования начали применяться для изучения биохимических систем и процессов с начала 1960-х гг. (Sugita, 1961, 1963; Sugita, Fukuda, 1963; Walter *et al.*, 1967). Первые фундаментальные публикации по применению дискретного подхода к исследованию генетических систем связаны с работами С. Кауфмана. В частности, с использованием метода булевых сетей им были изучены вопросы метаболической стабильности и эпигенеза (Kauffman, 1969a), а также гомеостаза и дифференцировки в случайно сконструированных генетических сетях (Kauffman, 1969b). Эти и ряд других работ Кауфмана (Kauffman, 1974; 1977), а также работа Р. Тома (Tomas, 1973) в последующие годы заметно стимулировали применение дискретных методов к моделированию динамики МГС.

Булевы методы базируются на предположении о том, что в простейшем случае состояние гена можно представить в виде Булевой переменной, принимающей значение «1», когда ген активен и его продукт присутствует в среде, либо «0», когда ген неактивен и его продукт в среде отсутствует. Для моделирования динамики генной сети (изменения активностей генов во времени) вводится понятие булевой функции. С ее помощью активность каждого гена рассматриваемой МГС на текущем шаге расчетов вычисляется в зависимости от состояния на предыдущем шаге тех генов, про-

дукты которых влияют на экспрессию рассматриваемого гена.

Одновременно С. Кауфманом и Р. Тома Р.Н. Чураевым и В.А. Ратнером был развит дискретный подход для моделирования динамики молекулярно-генетических систем управления (МГСУ), использующий язык теории автоматов (Чураев, Ратнер, 1972; Чураев, 1975). В рамках этого подхода было предложено рассматривать пару «оперон–репрессор» как дискретный, функционирующий потактно автомат с конечной памятью. По входным каналам в автомат поступают двоичные сигналы, которые способны менять его состояние – режим функционирования. С использованием предложенной техники были построены и изучены модели нескольких оперонных систем, в частности модель молекулярного триггера (Чураев, Ратнер, 1972, Чураев, 1975), обобщение которой привело Р.Н. Чураева к формированию концепции эпигена (Чураев, 1975).

Следует также отметить две работы, опубликованные в начале 1970-х гг., посвященные изучению регуляторных генных сетей с использованием компьютерных методов. Одна из них посвящена логическому анализу непрерывных нелинейных сетей, контролирующих биохимические процессы (Glass, Kauffman, 1973), а другая – сравнению классических и аутогенных систем регуляций индуцибельных оперонов (Savageau, 1974). Модели, представленные в этих статьях, демонстрировали сложные динамические особенности нелинейных механизмов генетической регуляции и свидетельствовали о наличии большого потенциала применения вычислительных методов для изучения МГС.

В эти же годы в ИЦиГ СО РАН В.А. Ратнером, В.А. Куличковым и В.В. Шаминым с помощью математического моделирования были исследованы закономерности эволюционного возникновения и фиксации в популяции двухоперонного триггера, возникшего при рекомбинации отдельных плазмид (Ратнер, Куличков, 1975; Шамин, Куличков, 1977).

Богатый содержательный потенциал имела модель генетической регуляции, предложенная А.С. Чернавским (1975), который с использованием нелинейных дифференциальных уравнений изучил качественные закономерности поведения простейшей двух-

оперонной системы. В дальнейшем эта модель использовалась А.С. Чернавским для исследования роли генетического аппарата клетки в процессах возникновения жизни, ее эволюции и тканевой дифференцировки.

С конца 1960-х гг. в ИЦиГ СО РАН начинается работа по построению портретных математических моделей системы управления развитием бактериофага λ (Чураев, Ратнер, 1975) – наиболее экспериментально изученной на тот период МГС. Однако имевшиеся в то время методы не позволяли осуществлять портретное моделирование таких сложных биологических систем, как фаг λ , функционирование которых основано на работе десятков генов. Поэтому решение данной задачи потребовало разработки принципиально новых подходов к моделированию МГС. В 1975 г. была опубликована первая портретная модель динамики системы управления λ -фага (Чураев, Ратнер, 1975), построенная с помощью предложенного для этих целей порогового метода моделирования.

Замечательная особенность этого подхода заключается в том, что он занимает промежуточное положение между дискретными и непрерывными методами. Его суть состоит в разбиении «*фазового пространства на области, внутри которых поведение системы описывается линейными дифференциальными уравнениями, а условия перехода между областями – булевыми функциями*» (Чураев, Ратнер, 1975). Решения линейных систем «*сшиваются*» на границах зон. В результате вся исследуемая система разбивается на конечное число функциональных блоков. Каждый блок описывает один процесс, например, синтез белка. Динамические переменные блоков имеют смысл концентраций продуктов. Скорости их наработки и утилизации задаются с помощью линейных дифференциальных уравнений. В единую систему блоки соединяются с помощью логических переменных, принимающих значение 0 либо 1 в зависимости от того, превосходит или нет концентрация определенного продукта некоторую пороговую величину. Модели, построенные на основе данного подхода, позволяют, хотя и огрубленно, описывать динамику очень сложных МГС (Чураев, Ратнер, 1975). Этот подход был близок к методу моделирования слож-

ных систем с лимитирующими факторами, основанному на использовании систем нелинейных дифференциальных уравнений, развивавшемуся в 1960–1970-е гг. известным кибернетиком И.А. Полетаевым в Институте математики СО РАН (Полетаев, 1973).

Пороговые методы моделирования динамики МГС получили свое развитие при создании нового поколения портретных моделей управления онтогенезом бактериофага λ (Кананян и др., 1979; Kananyan *et al.*, 1981). Эти модели давали детальное описание биосинтеза ДНК, мРНК и белков фага 1 в процессе его внутриклеточного развития, а также механизмов их генетической регуляции. В дальнейшем Р.Н. Чураев разработал обобщенный пороговый метод моделирования, который активно применяется к моделированию динамики широкого круга МГС, в том числе, и это особенно существенно, функционирующих в клетках эукариот (Prokudina *et al.*, 1991; Tchuraev, 1991; Churaev, Galimzyanov, 2001; Tchuraev, Galimzyanov, 2003).

Заканчивая введение, следует подчеркнуть, что в настоящее время моделирование МГС – это огромная и бурно развивающаяся область информационной биологии. И хотя общая история ее развития укладывается в период не многим более сорока лет, за это время создано множество подходов к анализу и моделированию МГС. Список основных методов дан в Приложении 1 к настоящей статье. Подробное описание как этих методов, так и их применения к изучению большого разнообразия молекулярно-генетических, биохимических и регуляторных систем и процессов представлено в ряде обзоров (McAdams, Arkin, 1998; Smolen *et al.*, 2000; Endy, Brent, 2001; Hasty *et al.*, 2001; de Jong, 2002; Turner *et al.*, 2004). Эти методы создают хорошую основу для успешного применения теоретических подходов при решении задач, стоящих перед системной биологией. Работа по совершенствованию существующих и созданию новых подходов к описанию и моделированию МГС активно ведется в настоящее время в большом числе научных групп, зачастую объединенных в крупные национальные и международные консорциумы по системно-компьютерной биологии (см. Приложение 2).

Применение методов математического моделирования к изучению МГС на начальных этапах (1960–1980-е гг.) существенно ограничивалось недостатком экспериментальных данных. Однако с середины 1990-х гг. ситуация начала качественно изменяться. Первый прорыв был связан с осуществлением крупномасштабных проектов расшифровки (секвенирования) геномов, дополняемых исследованиями по изучению структурно-функциональной организации регуляторных районов генов, что дало огромную и ценную информацию о геномном уровне организации и функционировании МГС.

Следующий методический прорыв, который привел к возможности получения огромных объемов информации о структурно-функциональной организации МГС организмов, был связан с широчайшим применением высокопроизводительных конвейерных чиповых технологий («microchip-based high-throughput technologies»). С их помощью можно следить за динамикой изменения эффективности экспрессии различных генов клетки (DNA chips, Gene chips), измерять концентрации белков, устанавливая их взаимодействия друг с другом (Protein microarrays, Proteome chips) и даже за происходящими в клетке процессами трансформации низкомолекулярных компонентов (Small-molecule microarrays) (Khandurina, Guttman, 2002). Происходит стремительное накопление экспериментальных данных по различным аспектам организации и функционирования МГС человека, животных, растений, микроорганизмов. Эта информация накапливается в большом количестве баз данных по системной биологии (см. Приложение 3).

В настоящем введении мы не ставили задачу дать детальное описание современного состояния дел в системной компьютерной биологии – огромной и бурно развивающейся области современной биологии. Это физически невозможно сделать в рамках отдельной статьи. Наша цель состояла скорее в том, чтобы дать качественное описание некоторых основополагающих идей и общего «ландшафта» системной компьютерной биологии, с тем чтобы перейти в следующей части статьи к рассмотрению современных подходов к описанию и моделированию

МГС, развиваемых в Новосибирской школе системной компьютерной биологии.

Описание структурно-функциональной организации МГС в базах данных: компьютерная технология GeneNet

В ИЦиГ СО РАН для формализованного описания структурно-функциональной организации генных и метаболических сетей, путей передачи сигналов, взаимодействия различных геномов на молекулярном уровне (например, при симбиозе или вирусной инфекции) создана Интернет-доступная компьютерная система GeneNet (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenetworks.shtml>) (Ananko *et al.*, 2005). В ее основе лежит информационная технология, позволяющая в единообразном формате создавать компьютерные описания самых разных молекулярно-биологических систем и процессов. Все объекты в базе данных GeneNet разделены на два основных класса: 1) элементарные структурные компоненты и 2) элементарные взаимодействия между этими компонентами. Элементарными структурными компонентами являются гены, кодируемые ими РНК, белки, а также небелковые молекулы, распределенные по различным компартментам клетки (или организма). Взаимодействия между элементарными структурами состоят из реакций и регуляторных событий разного типа.

Система GeneNet позволяет создавать интерактивные графические карты взаимодействий белков и генов, а также проводить логический анализ накопленной информации. Например, по запросу в базе данных GeneNet можно найти: 1) все реакции и регуляторные события, в которых участвует интересующий пользователя ген или белок; 2) полный путь/пути, связывающий два выбранных объекта; а также объекты, связанные с выбранным не только напрямую, но и связями 2-го, 3-го и т. д. порядков; 3) все замкнутые регуляторные циклы. Пример одного из замкнутых регуляторных циклов, найденных в генной сети, регулирующей ответ клетки на интерферон-альфа при вирусной инфекции – гепатите С, приведен на рисунке 1. Детальное рассмотрение структурно-функциональной организации ряда генных сетей, реконструированных на ос-

нове технологии GeneNet, можно найти в статье Н.А. Колчанова и др. «Интеграция генных сетей, контролирующих физиологические функции организма» в этом журнале. Более подробное описание этой компьютерной технологии можно найти в публикациях (Ananko *et al.*, 2005). В настоящее время в базе данных GeneNet реконструировано более 40 генных сетей, контролирующих различные процессы в организмах человека, животных, растений, микроорганизмов. В ИЦиГ СО РАН эта база данных является основным источником информации при построении математических моделей динамики МГС.

Обобщенный химико-кинетический метод моделирования МГС

Обобщенный химико-кинетический метод моделирования (ОХКММ) ориентирован на портретное описание функционирования МГС. Динамика МГС в ОХКММ описывается моделями вида:

$$t > 0, \quad \frac{dx_i}{dt} = F_i(X, K) - x_i G_i(X, K), \quad (1)$$

где $X = (x_1, \dots, x_n)$ – вектор динамических переменных, как правило, имеющих смысл концентраций, n – количество динамических переменных модели, $K = (k_1, \dots, k_m)$ – вектор параметров, $F_i(X, K)$ и $G_i(X, K)$ – рациональные функции, принимающие неотрицательные значения при всех неотрицательных значениях переменных и параметров.

В общем случае в рамках ОХКММ не вводится каких-либо специальных ограничений на язык описания операторов преобразования информации: это могут быть непрерывные, дискретные, арифметические, логические, стохастические и иные преобразования. Конкретный выбор способа описания определяется спецификой элементарных процессов, типом решаемых задач, средствами анализа и т. п. (Лихошвай и др., 2001а).

На основе ОХКММ разработаны модели онтогенеза λ -фага (Likhoshvai *et al.*, 2000), детерминированная и стохастическая модели функционирования аппарата трансляции в процессе элонгации (Likhoshvai, Matushkin, 2000); проводилось моделирование одиночных циклов развития вируса гриппа (Бажан, Лихошвай, 1989) и а-вирусов в чувствительных клет-

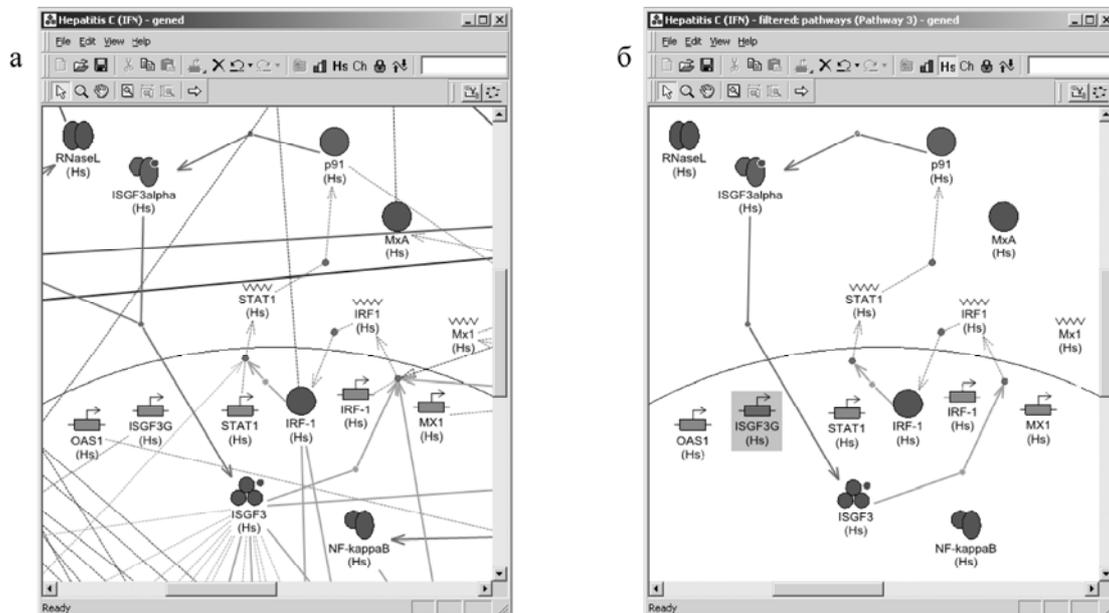


Рис. 1. Фрагмент схемы генной сети, регулирующей ответ клетки на интерферон-альфа при гепатите С.

а – без изменений; б – тот же фрагмент с применением фильтра данных по замкнутому циклу 3, в результате чего на экране остались только стрелки, входящие в цикл самоактивации синтеза одного из компонентов мультимерного транскрипционного фактора ISGF3. Кружками на схеме обозначены белки, зигзагообразными линиями – РНК, прямогольниками – гены, стрелками – взаимодействия между компонентами генной сети.

ках, индукции и противовирусного действия интерферонов (Бажан и др., 1993; Bazhan *et al.*, 1995; Belova *et al.*, 1995).

В настоящее время в ИЦиГ СО РАН на основе ОХКММ и с использованием информации, представленной в базе данных GeneNet, разрабатываются математические модели генных сетей дифференцировки и созревания эритроидной клетки (Ratushny *et al.*, 2000b), активации макрофага (Nedosekina *et al.*, 2002), TNF α -индуцируемой активации NF-kappaB (Guryeva, 2004) и др. Рассмотрим в качестве примера математическую модель генной сети, контролирующей гомеостаз холестерина в клетках позвоночных (Ratushny *et al.*, 2000a; Ратушный и др., 2002; Ратушный и др., 2003; Ratushny *et al.*, 2003; Ratushny *et al.*, 2004). Изучение функционирования данной МГС в норме и в различных патологических состояниях является одним из ключевых направлений в современной бионауке липидов. Нарушения в данной генной сети играют ключевую роль в развитии гиперхолестеринемии и атеросклероза у человека и различных видов животных.

Гомеостаз холестерина в клетках позвоночных преимущественно регулируется двумя мембрансвязанными транскрипционными факторами (ТФ): sterol regulatory element-binding proteins (SREBP)-1a и -2. SREBP активируют экспрессию многих генов, продукты которых участвуют в биосинтезе холестерина и его транспорте в клетку из плазмы крови в составе липопротеинов (Horton *et al.*, 2002, 2003). Образование активной формы ТФ SREBP напрямую зависит от содержания холестерина в клетке. Чувствительным к внутриклеточному содержанию холестерина звеном в данной генной сети, за счет которого реализуется отрицательная обратная связь, ответственная за поддержание гомеостаза холестерина в клетках позвоночных, является транспорт комплекса cleavage activating protein (SCAP)-SREBP из эндоплазматического ретикулума (ЭР) в аппарат Гольджи (АГ). В АГ происходит последовательный двухэтапный протеолиз SCAP-SREB комплекса посредством 2 протеаз (Site-1 и Site-2) и высвобождение активной формы SREBP, которая проникает в ядро клетки, специфически связывается со стеролрегуляторными элементами (SRE) генов, кодирующих ферменты пути биосинтеза холесте-

рина, рецепторы липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и др., тем самым координированно активируя их транскрипцию. Ключевым этапом, определяющим транспорт SCAP-SREBP комплекса из ЭР в АГ, является конформационное изменение белка SCAP. При высоком содержании холестерина в клетке конформация SCAP позволяет комплексу SCAP-SREBP связываться в ЭР с мембранфиксирующим белком инсулининдуцированного гена (insulin-induced gene (INSIG) retention protein), тем самым препятствуя его транспорту в АГ. При низком содержании холестерина в клетке SCAP принимает конформацию, которая позволяет комплексу SCAP-SREBP диссоциировать с мембранфиксирующим белком и транспортироваться в составе COP II везикул в АГ (Gimpl *et al.*, 2002).

Нами было проведено компьютерное исследование функционирования генной сети, контролирующей гомеостаз холестерина в клетках позвоночных. Построена математическая модель этой генной сети (Ratushny *et al.*, 2000a; 2003; 2004; Ратушный и др., 2002; 2003). Модель описывает функционирование МГС, состоящей из 33 генов, 34 белков, 10 комплексов и 32 различных низкомолекулярных соединений. В модели описана система транспорта молекул между 6 компартментами и плазмой крови. Модель построена на основе ОХКММ и формально представляет собой систему автономных обыкновенных дифференциальных уравнений с дискретными частями, позволяющими моделировать внешние воздействия на генную сеть. Для модели методами численной адаптации с привлечением широкого круга данных экспериментов подобраны оптимальные наборы значений параметров при различных условиях функционирования биологической системы (Ratushny *et al.*, 2000a; Ратушный и др., 2002; Ратушный и др., 2003; Ratushny *et al.*, 2003; 2004) На рис. 2 представлено сравнение результатов расчета по математической модели (Ratushny *et al.*, 2003) с экспериментальными данными из работ (Goldstein *et al.*, 1975; Goldstein, Brown, 1977; Brown, Goldstein, 1988).

На основе построенной модели проведено исследование в норме и при патологиях системы транспорта холестерина из плазмы крови в клетку, опосредованного рецепторами ЛНП (изменения в протекании данного

процесса играют важную роль в развитии гиперхолестеринемии и атеросклероза в организме человека и животных), различных генетических нарушений в метаболическом пути биосинтеза холестерина, которые могут быть критическими в развитии таких заболеваний, как мевалоновая ацидурия, синдром Смита–Лемли–Опитца, десмостеролиз и т. д., а также нарушения в системе регуляции гомеостаза холестерина в клетке.

Проведен анализ мутационной устойчивости ключевых характеристик данной системы (Ратушный и др., 2003; Ratushny *et al.*, 2003; Ratushny *et al.*, 2004). При этом исследовались изменения стационарных концентраций динамических переменных математической модели в зависимости от мутационного изменения констант протекания процессов в генной сети, контролирующей гомеостаз холестерина. Примеры изменения внутриклеточной стационарной концентра-

ции несвязанного с мембраной холестерина в зависимости от величины ряда параметров модели приведены на рис. 3. Можно видеть, что изменение интенсивности некоторых процессов, протекающих в генной сети, оказывает очень существенное влияние на стационарную концентрацию холестерина внутри клетки, в то время как изменение других параметров оказывает пренебрежимо малое влияние на величину этой принципиальной переменной генной сети.

Рисунок 4 суммирует результаты компьютерных экспериментов по анализу устойчивости концентрации внутриклеточного холестерина к мутационному изменению интенсивности процессов, контролирующей внутриклеточный гомеостаз холестерина (Ratushny *et al.*, 2002b; 2003; 2004; Ратушный и др., 2003). Можно видеть, что стационарная концентрация несвязанного с мембраной холестерина в клетке в целом устой-

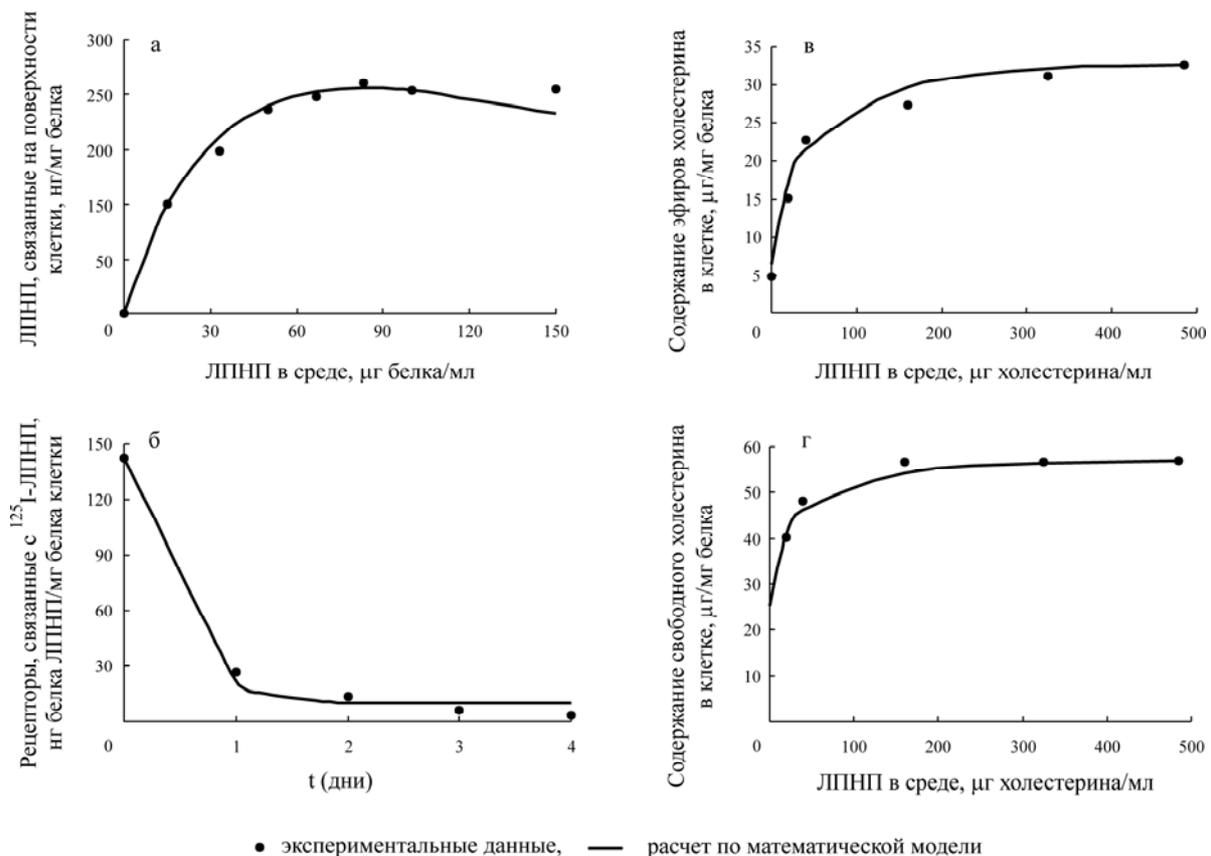


Рис. 2. Сравнение результатов расчета по математической модели генной сети, контролирующей внутриклеточный гомеостаз холестерина (Ratushny *et al.*, 2003), с экспериментальными данными:

а – (Brown, Goldstein, 1988), б – (Goldstein, Brown, 1977), в, г – (Goldstein *et al.*, 1975).

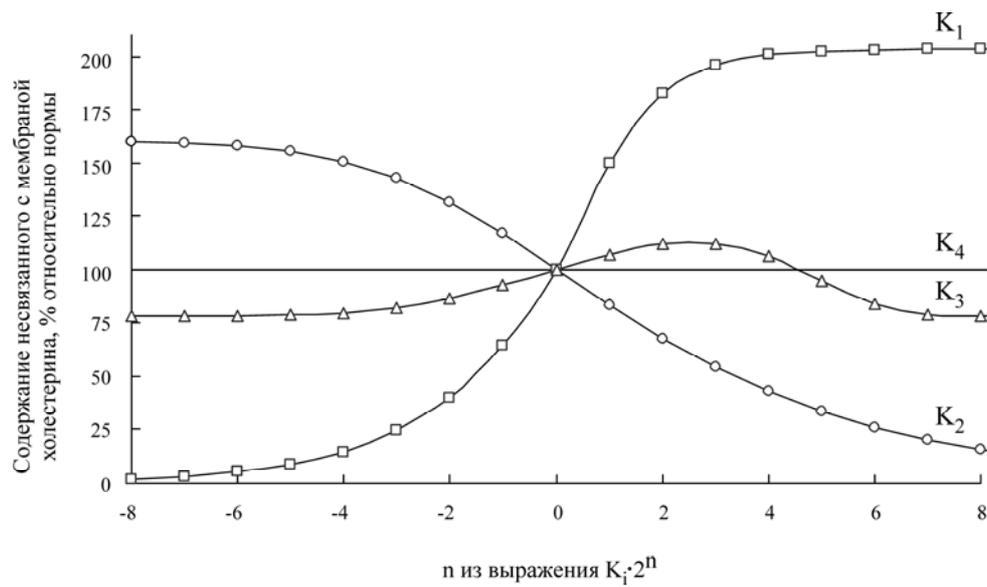


Рис. 3. Влияние мутационного варьирования параметров математической модели генной сети, контролирующей внутриклеточный гомеостаз холестерина (Ratushny *et al.*, 2003) на стационарное содержание несвязанного с мембраной холестерина в клетке.

По оси абсцисс – значение p из выражения $K_1 \cdot 2^p$; по оси ординат – содержание несвязанного с мембраной холестерина в клетке. K_1 – константа оборота фермента стеролпротеазы; K_2 – константа диссоциации SREBP на мономеры; K_3 – константа Михаэлиса фермента ацетоацетил кофермент-А тиолазы; K_4 – константа оборота фермента ацил-кофермент-А холестерин ацилтрансферазы (АХАТ).

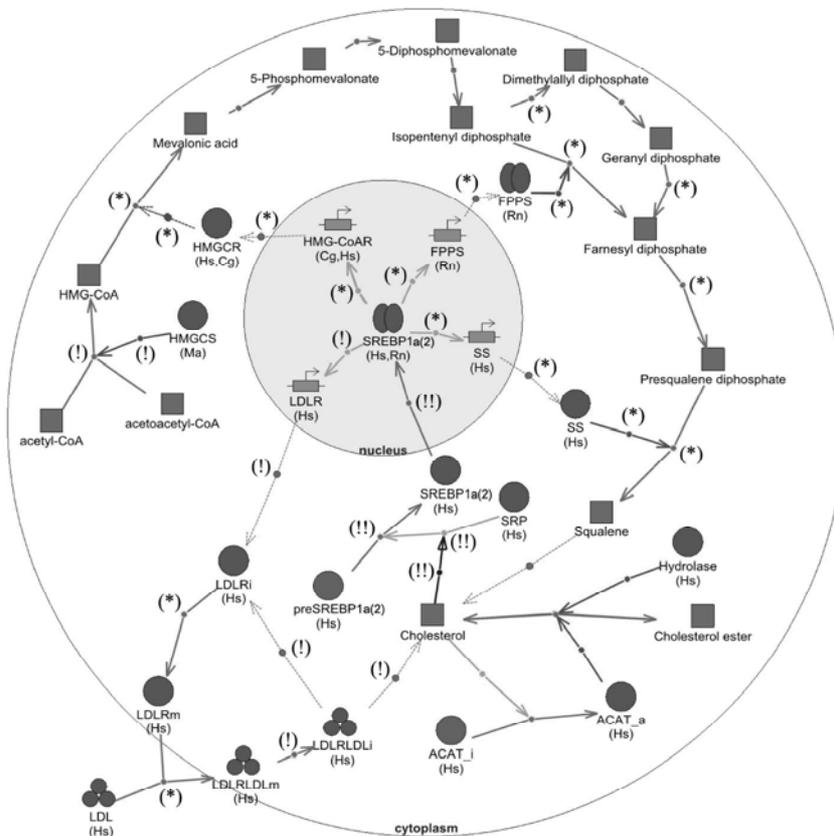


Рис. 4. Генная сеть, контролирующая внутриклеточный гомеостаз холестерина (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenetworks.shtml>).

Процессы, которые, согласно результатам исследования, чувствительны к мутациям, обозначаются следующим образом: (!) при мутационном изменении скоростей процессов в пределах ± 2 порядка стационарная концентрация холестерина изменяется от 0 до более чем 200 % относительно нормы; (!) – изменение не более чем на 35 % от нормы; (*) – изменение не более чем на 25 % от нормы.

чива к мутационному изменению интенсивности процессов, протекающих в геномной сети.

Замечательная устойчивость геномной сети биосинтеза холестерина к мутациям обусловлена несколькими обстоятельствами. Определенную роль играет шунтирование (распараллеливание) в некоторых звеньях метаболического пути биосинтеза холестерина, позволяющее одному из звеньев обеспечивать достаточную продукцию промежуточного метаболита при мутационном повреждении другого звена. Однако ключевое значение имеет описанная выше отрицательная обратная связь, регулирующая интенсивность биосинтеза холестерина в мевалонатном пути и его поступление в клетку из плазмы крови и обеспечивающая нейтрализацию влияния мутаций, приводящих к повышению (понижению) концентрации внутриклеточного холестерина. Следует подчеркнуть, однако, что по указанным выше причинам наиболее уязвимыми к мутациям оказываются именно регуляторные звенья рассматриваемой геномной сети, повреждение которых может существенно влиять на содержание холестерина в клетке (Ратушный и др., 2003; Ratushny *et al.*, 2003; 2004).

Предложенный метод исследования «мутационных портретов» геномных сетей, на наш взгляд, является незаменимым при выявлении мишеней для фармакологической регуляции различных патологий в биологических системах.

Электронная клетка

Создание портретных математических моделей функционирования живых клеток, детально и с исчерпывающей полнотой описывающих процессы внутриклеточного метаболизма и его генетической регуляции, – одна из ключевых проблем системной компьютерной биологии. Ее называют также проблемой *электронной клетки*. В настоящее время исследователи очень далеки от возможности построения полных математических моделей эукариотических клеток. Что же касается клеток прокариотических, то создание их полных математических моделей – дело самого ближайшего будущего. В настоящем разделе статьи мы даем описание подходов к решению проблемы бактериальной *электронной клетки*, разрабатываемых

в ИЦиГ СО РАН. Потребности моделирования всей совокупности генетически регулируемых метаболических процессов бактериальных клеток требуют развития качественно новых технологий автоматизированного конструирования математических моделей МГС.

Создаваемая нами технология математического моделирования бактериальной клетки основана на построении математических моделей генетической регуляции отдельных метаболических путей и процессов с их последующим объединением в общую модель бактериального метаболизма (рис. 5). Она требует описания широкого круга качественно различных процессов, происходящих в бактериальной клетке, включая: 1) процессы регуляции экспрессии отдельных генов; 2) процессы формирования мультимерных ферментативных комплексов; 3) процессы регуляции ферментативных реакций, катализируемых этими комплексами; 4) процессы деградации и утилизации высоко- и низкомолекулярных веществ.

Главная проблема, стоящая перед исследователями, – необходимость построения математических моделей в условиях принципиальной нехватки экспериментальных данных и ограниченности сведений о молекулярных механизмах генетической регуляции изучаемых процессов. При этом задача заключается в построении таких моделей, которые максимально адекватно соответствуют имеющимся экспериментальным данным и позволяют получать значимую информацию о деталях протекания исследуемых процессов.

Разрабатываемый нами подход к построению математических моделей различных процессов, протекающих в бактериальной клетке, основан на использовании обобщенных функций Хилла. Его достоинство состоит в том, что он позволяет строить адекватные математические модели с минимальной сложностью описания моделируемых процессов в условиях недостатка знаний о тонких механизмах их протекания.

Нами разработан большой набор фреймворковых моделей, соответствующих различным экспериментальным ситуациям изучения экспрессии генов. Например, в случае, когда изучается зависимость экспрессии гена от концентраций транскрипционных регулято-

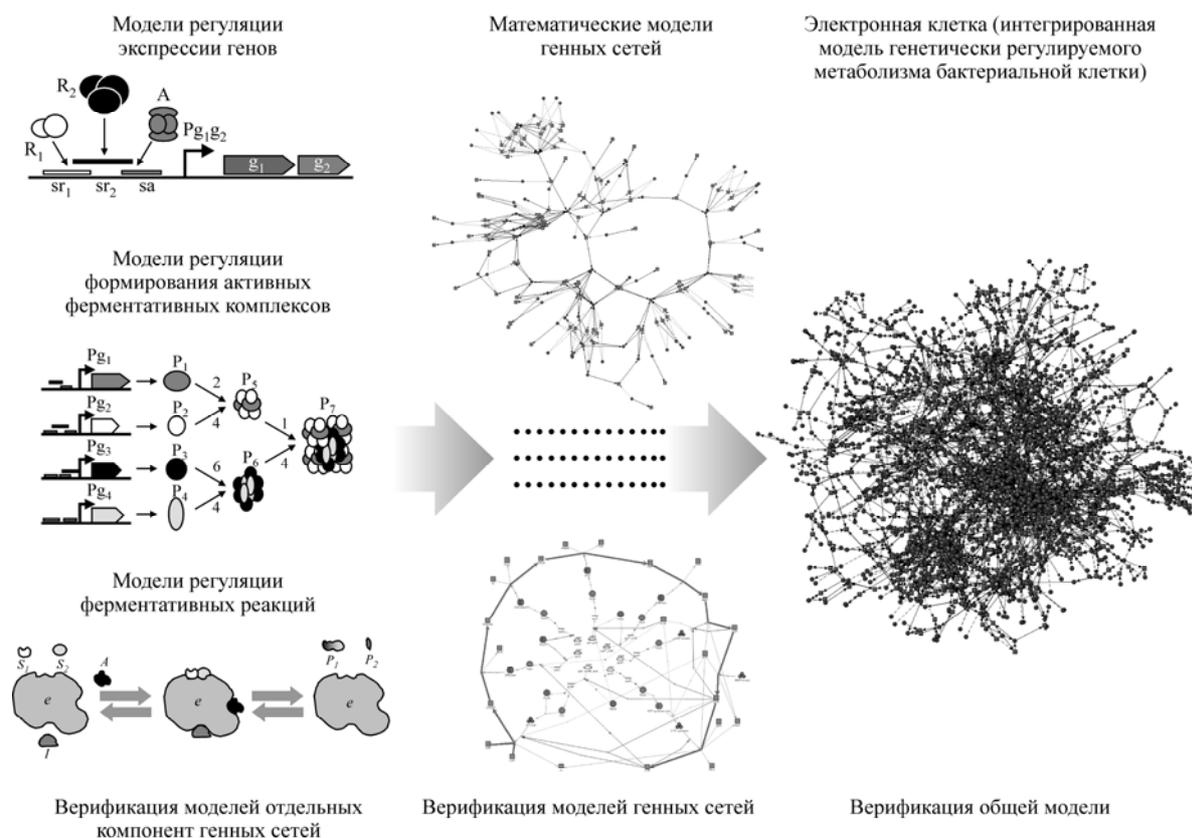


Рис. 5. Технология построения генетически регулируемого метаболизма бактериальной клетки.

ров и при этом уровень экспрессии гена экспериментально оценивается по кинетике наработки соответствующего белкового продукта (а динамические характеристики про-

межуточных этапов экспрессии неизвестны), обобщенная фреймовая модель, соответствующая этой экспериментальной ситуации, выглядит следующим образом:

$$\frac{dP_i}{dt} = k_i \cdot \frac{k + \sum_{s_{i1}}^{C_{As,1}} \left(\frac{R_{s_{i1}}}{K_{s_{i1}}} \right)^{h_{s_{i1}}} + \sum_{s_{i1}, s_{i2}}^{C_{As,2}} \frac{R_{s_{i1}}^{h_{s_{i1}}} R_{s_{i2}}^{h_{s_{i2}}}}{K_{s_{i1},2}^{h_{s_{i1}}+h_{s_{i2}}}} + \dots + \sum_{s_{i1}, \dots, s_{iM}}^{C_{As,M}} \frac{\prod_{k=1}^M R_{s_{ik}}^{h_{s_{ik}}}}{K_{s_{i1}, \dots, s_{iM}}^{\sum_{k=1}^M h_{s_{ik}}}}}{1 + \sum_{s_{j1}}^{C_{Is,As,1}} \left(\frac{R_{s_{j1}}}{K_{s_{j1}}} \right)^{h_{s_{j1}}} + \sum_{s_{j1}, s_{j2}}^{C_{Is,As,2}} \frac{R_{s_{j1}}^{h_{s_{j1}}} R_{s_{j2}}^{h_{s_{j2}}}}{K_{s_{j1},2}^{h_{s_{j1}}+h_{s_{j2}}}} + \dots + \sum_{s_{j1}, \dots, s_{jN}}^{C_{Is,As,N}} \frac{\prod_{w=1}^N R_{s_{jw}}^{h_{s_{jw}}}}{K_{s_{j1}, \dots, s_{jN}}^{\sum_{w=1}^N h_{s_{jw}}}}}, \quad (2)$$

здесь P_i – концентрация i -го синтезируемого белка, R_{s_i} – концентрация молекул транскрипционного фактора (регулятора), взаимодействующих с s_i регуляторным сайтом, K_{s_i} – константа взаимодействия транскрипционного фактора с s_i регуляторным сайтом,

$C_{As,m}$ – число различных комбинаций непересекающихся m регуляторных сайтов активации транскрипции ($m = 1..M$), $C_{Is, As, n}$ – число различных комбинаций непересекающихся n регуляторных сайтов активации и репрессии транскрипции ($n = 1..N$).

В качестве примера использования обобщенных функций Хилла в описанной выше ситуации рассмотрим регуляцию экспрессии гена *purC* в клетке *Escherichia coli*. Известно, что экспрессия этого гена, кодирующего фермент биосинтеза пиримидинов – дигидрооротазу, негативно регулируется пиримидинами (Wilson *et al.*, 1992). Мутационный анализ регуляторного района гена *purC* показал, что для ингибирования экспрессии этого гена необходимо формирование шпильки на 5'-конце транскрипта *purC*, перекрывающейся с сайтом связывания рибосомы (Wilson *et al.*, 1992). Образование шпильки контролируется нуклеотидчувствительным выбором сайта инициации транскрипции гена *purC*. При высокой концентрации СТР основная часть транскриптов *purC* иницируется с нуклеотида, позиция которого на 7 пар оснований ниже –10-области гена *purC*. Такие транскрипты способны формировать стабильную шпильку на 5'-конце мРНК в районе сайта связывания рибосомы, препятствуя нормальной инициации трансляции. При низкой концентрации СТР и высоком уровне GTP основная часть транскриптов *purC* иницируется с нуклеотида, позиция которого ниже на 2 пары оснований. Укороченный транскрипт в этой ситуации не способен обра-

зовывать стабильную шпильку на 5'-конце мРНК, что обеспечивает нормальную инициацию трансляции.

Таким образом, уникальность рассматриваемой ситуации состоит в том, что регуляция синтеза белка *PurC* осуществляется по механизму отрицательной обратной связи путем выбора старта транскрипции, влияющего на возможность инициации трансляции транскрибируемой мРНК. В условиях избытка пиримидинов преимущественно синтезируются транскрипты, образующие шпильку в сайте посадки связывания рибосомы, и происходит блокирование инициации трансляции. В условиях недостатка пиримидинов в клетке синтезируются укороченные транскрипты, которые могут транслироваться, тем самым повышая концентрацию дигидрооротазы в клетке (Wilson *et al.*, 1992).

Не вдаваясь в детальное описание механизма генетической регуляции экспрессии гена *purC*, который, как можно видеть из описанного выше, характеризуется исключительно высокой сложностью, отметим, что использование метода коэффициентов Хилла позволяет получить очень компактное описание всей совокупности рассматриваемых процессов:

$$V = d \cdot V_{max}, \quad d = \frac{\left(\frac{GTP}{k1_{GTP}}\right)^{n_g}}{1 + \left(\frac{GTP}{k2_{GTP}}\right)^{n_g} + \left(\frac{CTP}{k_{CTP}}\right)^{n_c} + \frac{GTP^{n_g} \cdot CTP^{n_c}}{k_{GTP,CTP}^{n_g+n_c}}}, \quad (3)$$

здесь V , V_{max} – текущая и максимальная скорости синтеза белка *PurC* в стандартных условиях соответственно; d – доля текущей скорости от максимальной; GTP и CTP – концентрация GTP и СТР; $k1_{GTP}$, $k2_{GTP}$ и k_{CTP} – константы эффективности влияния GTP и СТР на синтез белка *PurC*; $k_{GTP,CTP}$ – константа эффективности совместного влияния GTP и СТР на синтез белка *PurC*; n_g и n_c – константы, характеризующие степень нелинейности влияния GTP и СТР на синтез белка *PurC*.

Отметим, что конкретный вариант фрейма, предложенный для математического моделирования регуляторных процессов, с ис-

пользованием обобщенной функции Хилла, отличается большой простотой (сравнительно со сложностью рассматриваемых молекулярно-биологических процессов), обеспечивая тем не менее очень хорошее соответствие экспериментальных данных и результатов расчетов.

На рисунке 6а, б представлены результаты расчетов по модели (3) и их сравнение с экспериментальными данными по влиянию различных концентраций СТР и GTP на образование транслируемых транскриптов *purC*. Они свидетельствуют о высокой степени адекватности модели генетической регуляции рассматриваемого гена, построен-

ной в условиях ограниченности имеющихся сведений о механизмах этой регуляции.

Разработанный нами метод моделирования, основанный на использовании обобщенных функций Хилла, занимает промежуточное положение между широко известным методом моделирования метаболизма бактериальной клетки, предложенным Палсоном (Palsson), позволяющим рассчитывать стационарное распределение метаболических потоков (Covert, Palsson, 2003; Price *et al.*, 2003; Covert *et al.*, 2004), с одной стороны, и портретным моделированием МГС в рамках обобщенного химико-кинетического подхода (Likhoshvai *et al.*, 2000; Ratushny *et al.*, 2000a, b; 2003; Лихошвай и др., 2001; Nedosekina *et al.*, 2002; Ратушный и др., 2003).

Рассматривая общие особенности предложенной нами технологии математического моделирования, следует подчеркнуть, что она направлена на предельно возможное уменьшение размерности создаваемых моделей (количества уравнений, переменных и параметров) при сохранении динамических свойств моделируемых систем и процессов. В предлагаемом подходе динамическими переменными конструируемых моделей являются концентрации белков, кодируемых генами, а также низкомолекулярные соеди-

нения (продукты и субстраты), возникающие в результате генетически контролируемых метаболических процессов и в свою очередь влияющие на процессы генетической регуляции. Все остальные сущности, такие, как комплексы белков и их модификации, вычисляются как функции от соответствующих динамических переменных (концентраций белков). Моделирование генетической регуляции и метаболических путей проводится в терминах функциональных активностей.

В конечном счете каждая сущность в рамках нашего подхода наделена определенным специфическим набором функциональных активностей, что автоматически определяет ее вхождение во все реакции, в которых предусмотрено участие данных активностей. Предлагаемый подход обладает высокой степенью универсальности и может быть использован для разработки моделей генетической регуляции метаболических систем произвольных типов бактериальных клеток. В рамках этого подхода в ИЦиГ СО РАН в настоящее время осуществляется крупномасштабное математическое моделирование генетической регуляции клеточных процессов, конечной целью которого является построение бактериальной электронной клетки.

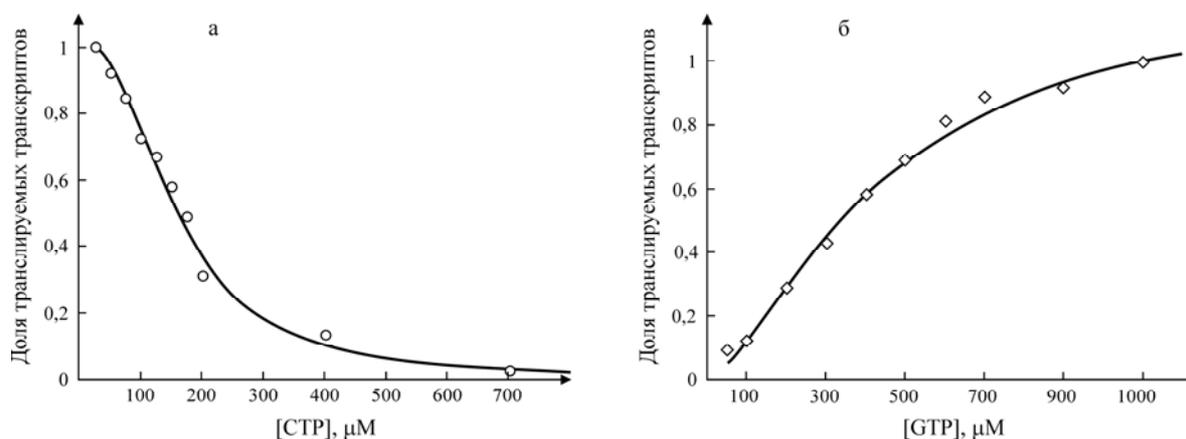


Рис. 6. Влияние концентрации CTP (а) и GTP (б) на образование транслируемых транскриптов *purC* (Wilson *et al.*, 1992). Условия эксперимента: транскрипты синтезировались в присутствии АТР (2,7 mM), УТР (1,4 mM), (а) GTP (1,1 mM) и (б) CTP (0,1 mM).

По оси абсцисс отложено значение концентрации CTP (а) и GTP (б) в μM, по оси ординат – доля транслируемых транскриптов. Кружки (а) и ромбы (б) на графиках отображают экспериментальные данные из работы (Wilson *et al.*, 1992); кривая – результаты расчета модели (3) со следующими значениями параметров: $k1_{GTP} = 30 \mu M$, $k2_{GTP} = 50 \mu M$, $k_{CTP} = 25 \mu M$, $k_{GTP,CTP} = 150 \mu M$, $n_c = 2,4$, $n_g = 1,5$.

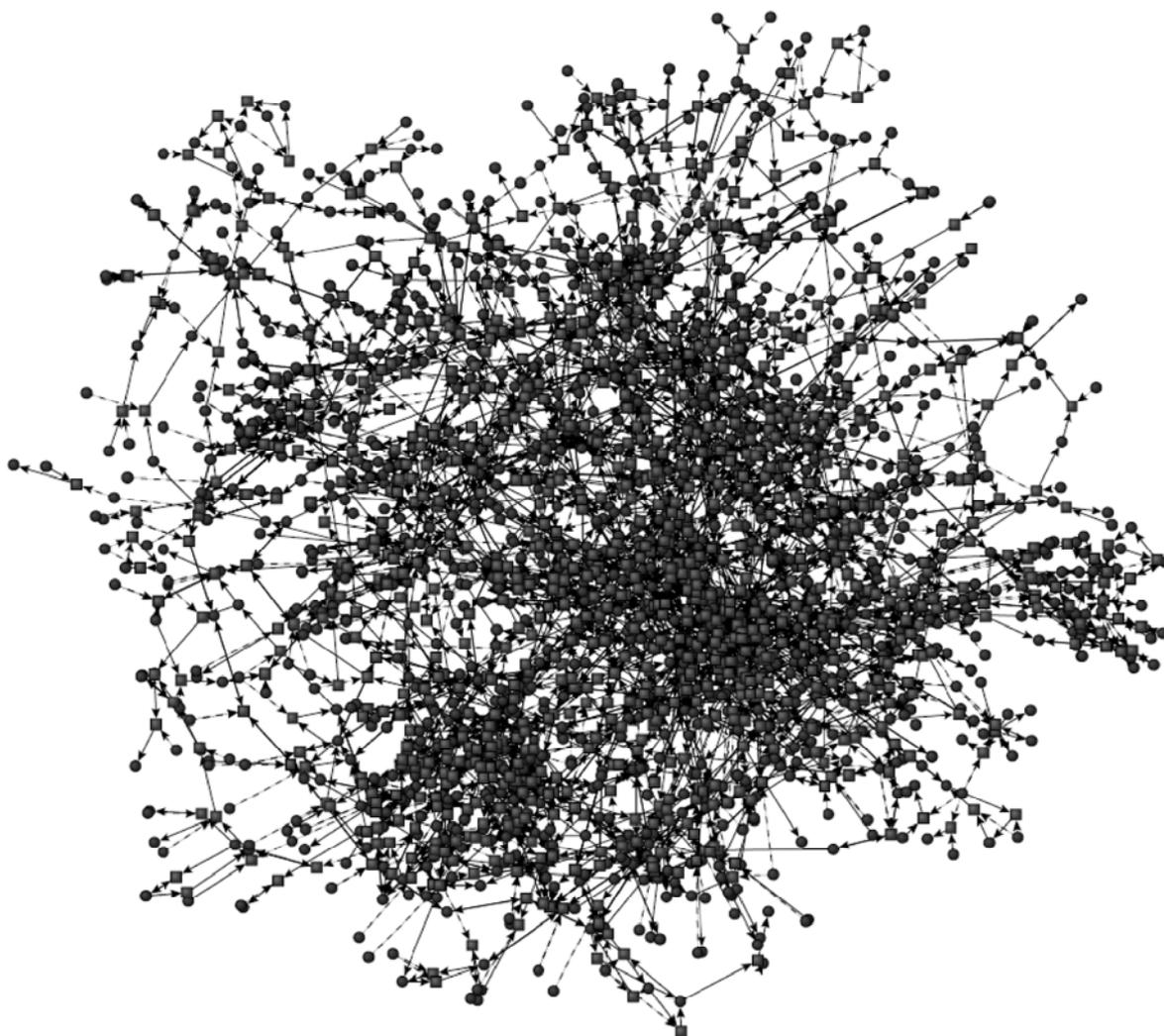


Рис. 7. Двудольный граф модели метаболизма *Bacillus subtilis*. Для визуализации графа модели использовался пакет програм Pajek (Batagelj, Mrvar, 1998).

Вершины-кружки соответствуют динамическим переменным модели, вершины-квадратики – процессам. Дуги графа определяют структурно-функциональную организацию моделируемой системы или участие компонентов системы в определенных ее процессах.

Наглядное представление о сложности задачи построения *электронной клетки* дает реконструированный нами двудольный граф математической модели метаболизма *Bacillus subtilis*, представленный на рис. 7. Граф реконструирован на основе информации о метаболических процессах *Bacillus subtilis*, представленных в базе данных KEGG, доступной по адресу: <http://www.genome.ad.jp/kegg/xml/bsu/index.html>. Модель метаболизма *Bacillus subtilis* описывает кинетику 1490 ферментативных реакций, про-

текающих при участии 477 ферментативных активностей и 951 низкомолекулярного соединения. Она описывает большую часть метаболических процессов в *Bacillus subtilis*: метаболизм углеводов; энергетический метаболизм, липидный метаболизм, метаболизм нуклеотидов и аминокислот, биосинтез и метаболизм гликанов, метаболизм кофакторов и витаминов, биосинтез вторичных метаболитов и биодеградацию ксенобиотиков.

Представление о сложности регуляторной генетической компоненты этой модели дает

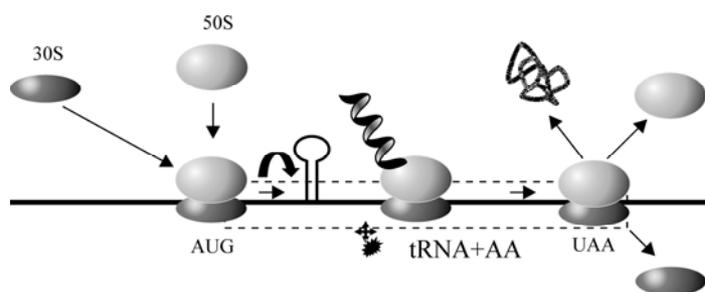


Рис. 8. Схематическое представление трансляции прокариотической мРНК.

тот факт, что геном *Bacillus subtilis* содержит 4085 белок-кодирующих аннотированных генов, транскрипционная активность которых регулируется с более чем 2000 промоторов. В целом, по нашим предварительным оценкам, грубая портретная математическая модель генетически регулируемого метаболизма *Bacillus subtilis* потребует описания не менее 40000 регуляторных процессов.

Ясно, что при решении проблемы электронной клетки огромное внимание будет уделяться созданию новых, высокоэффективных подходов и технологий моделирования именно генетической регуляции метаболизма. При этом потребуются детальное рассмотрение как особенностей расположения сайтов регуляции в пределах регуляторных районов генов, так и учет взаимного расположения и ориентации генов в пределах геномов.

Отдельную, очень сложную задачу представляет моделирование процессов матричного биосинтеза генетических макромолекул – репликации геномной ДНК, транскрипции генов (биосинтеза РНК), а также трансляции – биосинтеза белков. Ниже рассмотрен предлагаемый нами подход к математическому моделированию одного из матричных процессов – трансляции, – осуществляемый в рамках стохастического моделирования.

Стохастическое моделирование матричных процессов биосинтеза генетических макромолекул: трансляция

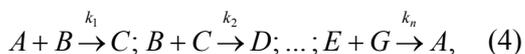
Такие фундаментальные молекулярно-генетические процессы, как репликация, транскрипция и трансляция являются матричными цепными процессами с огромным

количеством элементарных реакций. При этом каждая из этих реакций обладает выраженными стохастическими свойствами. Остается открытым до настоящего времени вопрос о том, к каким последствиям может приводить наличие стохастических элементов в протекании длинных последовательностей элементарных реакций, что характерно, например, для процессов матричного биосинтеза генетических макромолекул. Еще одна важная особенность многих молекулярно-генетических процессов – исключительно малые количества молекулярных компонент, обеспечивающих их протекание. Последнее характерно, например, для процессов генетической регуляции промоторов в бактериальных клетках, когда количество молекул регуляторного белка (транскрипционного фактора) может составлять всего несколько десятков единиц на весь объем клетки. Понятно, что роль стохастических эффектов в этих случаях также может быть исключительно велика.

В настоящем разделе статьи описано применение методов стохастического моделирования к описанию процесса трансляции мРНК в рамках современной модификации метода Монте-Карло в непрерывном времени.

Процесс трансляции является типичным матричным процессом с большой долей стохастичности на уровне взаимодействия молекул (рис. 8). Инициация трансляции мРНК прокариот осуществляется непосредственно на иницирующем кодоне, включающем опознавание сайта 40S субъединицей, затем с ней связывается 30S субъединица, после чего начинается трансляция. При этом инициация может быть осложнена шпилечными структурами, ложными стартами трансляции (AUG-кодонами) и другими сигналами. Движение вдоль кодирующей части мРНК также может зависеть от шпилечных структур, а также от скорости, с которой тРНК «подносят» к рибосоме соответствующую данному кодону аминокислоту. Разумеется, эти процессы высокостохастичны. Даже процесс распада транслирующего комплекса в конце мРНК более адекватно описывать стохастически, нежели дифференциальными уравнениями.

Рассмотрим общее описание системы, в которой происходят Марковские случайные процессы (например, бимолекулярные реакции). Пусть рассматриваемая система последовательных элементарных реакций имеет следующий вид:



где k_1, \dots, k_n – константы скоростей соответствующих реакций.

В отличие от моделирования с помощью дифференциальных уравнений, где изменения концентраций реагентов предполагаются непрерывными, в стохастическом моделировании количества реагентов задаются дискретным числом молекул и изменяются в результате осуществления каждой элементарной реакции.

Будем предполагать, что моменты осуществления i -й элементарной реакции описываются случайной величиной с показательным распределением $p_i(t) = e^{-k_i t}$. Вероятность того, что за короткий промежуток времени dt единичная молекула A вступит в реакцию с единичной молекулой B , равна $[A][B]k_1 dt + o(dt)$.

Пусть $a_i = [X][Y]k_i$ – частота i -й реакции, где $[X]$ и $[Y]$ – концентрации молекул веществ X и Y соответственно. Пусть $P(i, \tau)$ – плотность вероятности того, что следующая реакция будет i -я и произойдет в момент τ . Тогда, согласно (Gillespie, 1977):

$$P(i, \tau) d\tau = a_i \exp\left(-\tau \sum_j a_j\right) d\tau. \quad (5)$$

Согласно (Gibson, Bruck, 2000) алгоритм моделирования случайного процесса с плотностью $P(i, \tau)$ с помощью метода Монте-Карло с непрерывным временем включает следующие шаги:

1. Инициализация

- а) Задание начальных количеств молекул, $t \rightarrow 0$;
- б) Вычисление частот a_i для всех i ;
- в) Генерация для каждого i предполагаемого времени τ_i по экспоненциальному распределению с параметром a_i ;
- г) Сохранение всех значений τ_i в очереди по возрастанию P .

2. Пусть i – реакция с минимальным временем τ_i в очереди P .
3. Положим $\tau \rightarrow \tau_i$.
4. Изменение количества молекул в соответствии с выбранной реакцией i (полагаем $t \rightarrow \tau$).
5. Для каждой пары (i, a_i) обновление a_i, τ_i . Размещение τ_i в очереди P в соответствии с его величиной.

Переход алгоритма на 2-й шаг.

При моделировании процесса трансляции индивидуальных мРНК в рамках описанной выше схемы рассматривались следующие элементарные события трансляции:

- посадка i -й рибосомы на старт-кодон мРНК (если он свободен от другой рибосомы);
- присоединение заряженной тРНК к кодону в А-сайте i -й рибосомы;
- транслокация рибосомы (если другая рибосома перед ней не блокирует путь);
- терминация трансляции.

В расчетах использовались скорости трансляции индивидуальных кодонов, вычисленные ранее на основе частот встречаемости кодонов в высокоэкспрессирующихся генах (Likhoshvai, Matushkin, 2002).

Проведенный анализ показал, что эта модель хорошо воспроизводит качественные и количественные особенности процесса инициации трансляции, а также движения рибосомы вдоль мРНК с учетом типа кодона, находящегося в ее А-сайте, заданных концентраций заряженных тРНК, локальных вторичных структур и размера рибосомы. Модель позволяет оценивать статистические параметры процесса трансляции индивидуальных мРНК – скорость синтеза белка, степень оптимальности кодонного состава, профиль скорости элонгации, среднее расстояние между рибосомами и т. д.

Таким образом, нами разработана стохастическая портретная модель, позволяющая оценивать интенсивность трансляции мРНК в зависимости от ее нуклеотидной последовательности. В этой модели скорость считывания кодона связывается с концентрацией соответствующих фракций тРНК. На рис. 9 приведены результаты стохастического моделирования процесса трансляции мРНК At3g53020 *Arabidopsis thaliana* в бактериальной системе. К числу рассчитываемых характеристик процесса трансляции относятся, в частности сред-

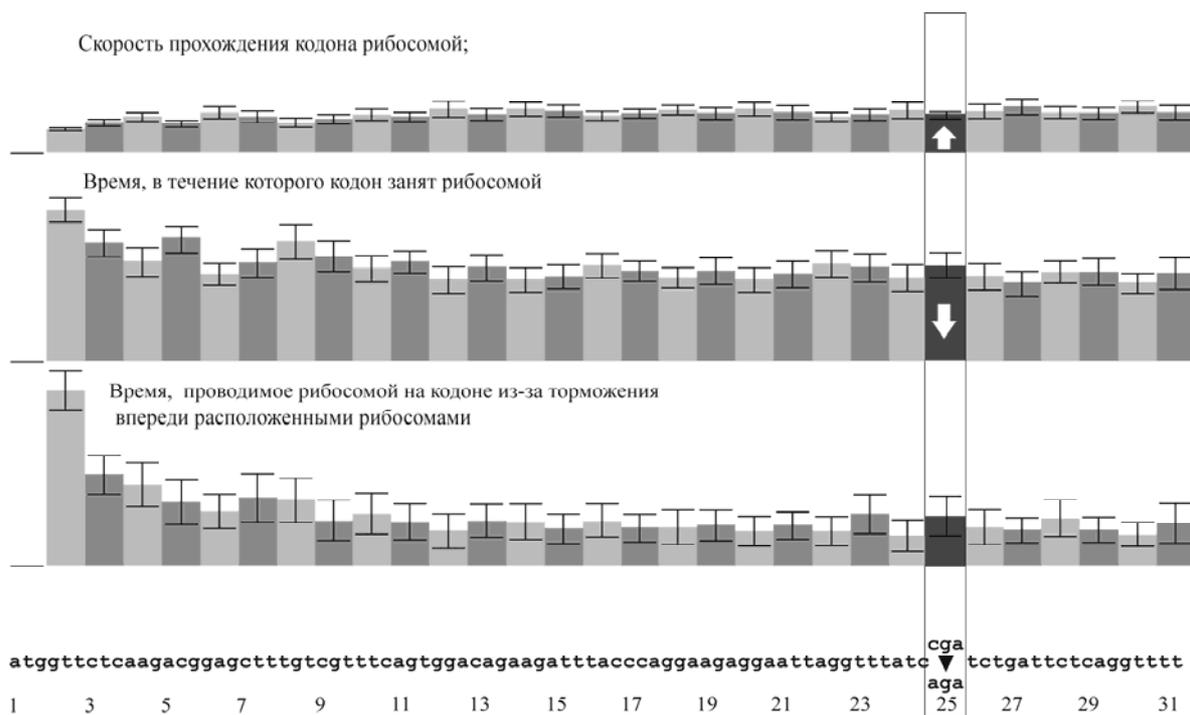


Рис. 9. Результаты стохастического моделирования процесса трансляции мРНК At3g53020 *Arabidopsis thaliana* в бактериальной системе.

няя скорость прохождения каждого кодона рибосомой, а также среднее время, в течение которого кодон занят рибосомой. Отметим, что 25-й кодон CGA (кодирующий аргинин) в рассматриваемом случае изначально имеет самую низкую скорость прохождения рибосомы и самое большое время, в течение которого он занят рибосомой. Замена 25-го кодона CGA на самый «быстрый» синонимичный кодон AGA существенно повышает скорость прохождения этого кодона рибосомой и снимает лимитирующее звено в процессе трансляции.

Следует еще раз подчеркнуть, что МГС на уровне элементарных процессов являются по своей сути стохастическими системами. При рассмотрении особенностей протекания этих процессов на системном уровне происходит усреднение параметров процессов и «маскировка» их стохастической сущности. Однако, как показывают приведенные выше результаты, рассмотрение стохастических аспектов протекания элементарных процессов, создающих основу матричного биосинтеза генетических макромолекул, позволяет зачастую выйти на качественно новый уровень понимания их особенностей. На основе имеюще-

гося у нас опыта мы приходим к выводу, что помимо математических моделей систем и процессов, построенных в рамках детерминистского представления, электронная клетка обязательно должна содержать определенные блоки (математические модели), реализованные в рамках стохастического подхода. В связи с этим в новосибирской школе системной компьютерной биологии наряду с детерминированными методами в дальнейшем предполагается уделять больше внимания стохастическим методам моделирования МГС.

Гипотетические генные сети

Одной из актуальных проблем на настоящем этапе развития биоинформатики и системной биологии является распознавание закономерностей функционирования регуляторных контуров генных сетей, которые, как правило, определяют динамические свойства системы. Для изучения данной проблемы нами развиваются комплексные подходы, в рамках которых большое значение придается анализу свойств гипотетических генных сетей (ГГС) – наборов генетических элементов (ГЭ), связан-

ных друг с другом в функциональную систему посредством сети регуляторных механизмов. ГЭ в упрощенном виде можно представить в виде триады «ДНК→мРНК→белок», где белок может осуществлять регуляцию работы другого ГЭ.

ГГС допускают представление в виде ориентированных графов, вершинами в которых являются продукты ГЭ, а дуги определяют сеть взаимодействий, другими сло-

вами, влияние одних продуктов посредством определенных механизмов на синтез других. Динамика функционирования ГГС описывается автономными системами дифференциальных уравнений и связанными с ними уравнениями специального вида с запаздывающими аргументами (Демиденко и др., 2004).

В общем случае модель ГГС формально можно представить в виде:

$$\begin{cases} \frac{dx_{j,i,1}}{dt} = A_j(x_l | l \in B_j) - f_{j,i,1}^+ + f_{j,i,2}^- - d_{j,i,1}, & j = \overline{1, m}, i \in P_j, \\ \frac{dx_{j,i,s}}{dt} = f_{j,i,s-1}^+ - f_{j,i,s}^- - f_{j,i,s}^+ + f_{j,i,s+1}^- - d_{j,i,s}, & j = \overline{1, m}, i \in P_j, s = \overline{2, n_{j,i}-1}, \\ \frac{dx_i}{dt} = \sum_{j \in G_i} f_{j,i,n_{j,i}}^+ - g_i(x_i, x_l | D_i), & i = \overline{1, n} \end{cases} \quad (6)$$

где n – количество конечных продуктов синтеза, m – количество начальных стадий синтеза продуктов, P_j – множество номеров конечных продуктов, которые синтезируются в результате инициации j -й начальной стадии, $A_j(x_l | l \in B_j)$ – механизм регулирования активности инициации j -й начальной стадии; B_j – список номеров конечных продуктов генной сети, регулирующих активность инициации j -й начальной стадии синтеза; $n_{j,i}$ – количество промежуточных стадий в синтезе i -го продукта при инициации j -й начальной стадии, $f_{j,i,s}^+$ – механизм перехода из промежуточной стадии синтеза в следующую промежуточную стадию (прямой процесс), $f_{j,i,s}^-$ – механизм возврата из промежуточной стадии синтеза в предыдущую промежуточную стадию (обратный процесс), $d_{j,i,s}$ – механизм преждевременного прерывания процесса синтеза (сток), $x_{j,i,s}$ – промежуточные стадии синтеза продуктов, x_i – i -й белок, β_i – константа диссипации i -го белка, G_i – множество номеров начальных стадий, в результате инициации которых синтезируется i -й конечный продукт, g_i – механизм распада конечного продукта (Демиденко и др., 2004).

Прямое описание этих процессов синтеза РНК и белков приводит к тому, что системы

(6) имеют очень большую размерность. Понятно, что это накладывает определенные ограничения на возможности проведения численного анализа таких систем. Возникает вопрос, насколько критичным для свойств систем (6) является наличие в них большого количества уравнений стандартного вида, описывающих стадии синтеза. Иными словами, будет ли система (6) сохранять принципиальные свойства при различных значениях параметров $n_{j,i}$. Было показано, что в общем случае свойства систем (6) существенно зависят от числа промежуточных стадий (Демиденко и др., 2004).

Тем не менее имеется способ перехода от систем (6) к новому классу систем (7)

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \sum_{j \in G_i} A_j(x_l(t - \tau_{ji}) | l \in B_j) - g_i(x_i(t), x_l(t) | l \in D_i), \quad i = 1, 2, \dots, n, \quad (7)$$

в которых число переменных в точности равно числу различных конечных продуктов и при этом не происходит потери свойств систем (6) (Демиденко и др., 2004). Такой переход возможен в условиях необратимости процессов и отсутствия стоков в системе (7) и основывается на предельной теореме, доказательство которой приведено в работе Лихошвая и др.

(2004). Запозывающие аргументы в уравнениях типа (7) имеют смысл характерных времен синтеза соответствующих мРНК и белков.

Полученный результат свидетельствует о том, что если процесс синтеза имеет достаточно большое количество промежуточных линейных стадий и скорость протекания каждой такой стадии достаточно велика, что характерно для синтеза мРНК и белков, то кинетика наработки конечного продукта практически не зависит от кинетики внутренних стадий синтеза.

Все определяется механизмом регуляции запуска первой стадии синтеза и величиной запаздывания, которая численно равняется среднему суммарному времени протекания всех промежуточных стадий. Таким образом, полученный в работе Лихошвая и др. (2004) результат устанавливает отношение между микро- и макроуровнями системы, если под микроуровнем рассматривать отдельные (микро)стадии синтеза, а под макроуровнем – суммарный синтез конечного продукта.

В связи с приведенной биохимической интерпретацией полученного результата встает естественный вопрос о критичности условий линейности и обратимости промежуточных стадий для выполнения доказанной предельной теоремы. Действительно, в реальных биологических системах отдельные стадии синтеза ДНК, РНК и белков являются линейными и необратимыми только в первом приближении. В целом же они оказываются нелинейными, так как являются совокупностями биохимических реакций. По этой же причине стадии синтеза все в большей мере теряют необратимость по мере того как мы рассматриваем все более мелкие подстадии, постепенно приближаясь к уровню протекания элементарных биохимических событий, на котором учитываются взаимодействия атомов. Поэтому изучение предельных переходов в системах типа (7), описывающих многостадийный синтез вещества при различных механизмах протекания промежуточных стадий синтеза, подводит точную теоретическую базу под интуитивное понимание того, что при определенных условиях для адекватного моделирования процессов на макроуровне не требуется полное знание механизмов функционирования системы на ее микроуровнях. Этот результат представляется исключительно важ-

ным этапом в построении теории генных сетей (Демиденко и др., 2004).

Системы (7) представляют очень широкий класс теоретических объектов, так как в качестве регуляторных функций могут выступать практически любые рациональные неотрицательные функции. Поэтому разнообразие режимов функционирования, которые можно у них отыскать, поистине неисчерпаемо. Они могут иметь множественные точки покоя и колебательные циклы практически в любых комбинациях (Thomas *et al.*, 1995, Лихошвай и др., 2001б, 2003а, б). Не исключено также, что некоторые конструкции ГГС могут иметь странные аттракторы. Пример простейшей генной сети, состоящей из одного ГЭ, конечный продукт которого осуществляет негативную регуляцию собственного синтеза на стадии транскрипции и трансляции, приведен на рисунке 10 (Жогай и др., 2005).

Этот пример демонстрирует, что хаотическое поведение может возникать уже в простейших генетических системах, и это ставит важную фундаментальную проблему роли хаоса в функционировании живых систем в процессе их онтогенеза и эволюции.

В ГГС можно выделить три иерархических информационных уровня. Первый уровень – структурный. На нем в виде орграфа фиксируется сеть регуляторных отношений в ГГС. Второй уровень – функциональный. На этом уровне в рамках конкретной структурной организации задаются определенные функции, моделирующие регуляторные механизмы. Третий уровень – параметрический. На данном уровне задаются конкретные значения параметров функционально верифицированных механизмов регуляции синтеза веществ и их деградации. Одним из основных вопросов, который при этом возникает, является вопрос о вкладе каждого иерархического информационного уровня описания в формирование свойств ГГС. Также одной из важных проблем является изучение условий, в которых задание структурного орграфа уже полностью определяет предельные режимы функционирования ГГС (стационары и предельные циклы).

Оказалось, что для некоторых классов ГГС, динамика функционирования которых описывается определенными правыми частями, знание структуры орграфа ГГС дает возможность определить ее предельные режимы функцио-

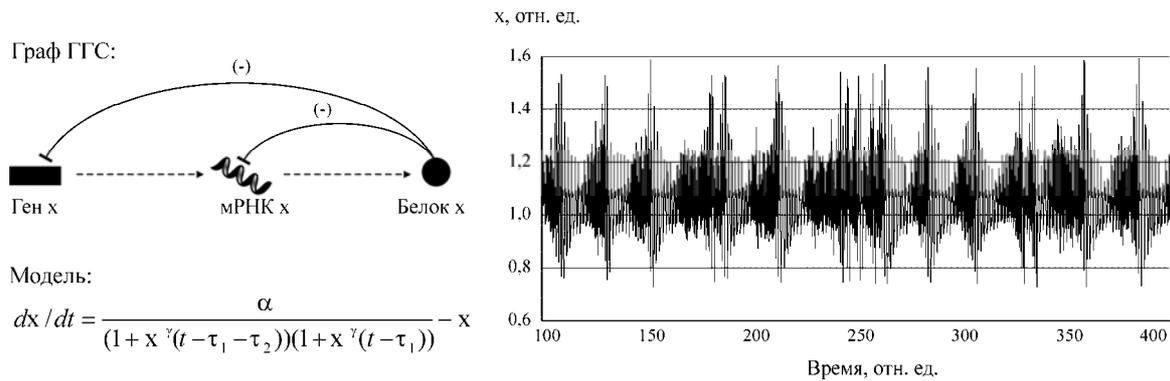


Рис. 10. Пример простейшей генной сети, состоящей из одного ГЭ, конечный продукт которого (x) осуществляет негативную регуляцию собственного синтеза на стадии транскрипции и трансляции.

На графике представлен теоретический расчет по модели, представленной на рисунке, при $\alpha = 50$, $\gamma = 50$, $\tau_1 = 0,031$, $\tau_2 = 0,774$ и $x(t_0) = 0,9$, $t - \tau_1 - \tau_2 \leq 0$. По оси ординат отложено значение условного времени, по оси абсцисс – концентрация белка x в относительных единицах.

нирования. Так, например, сформулирован (n,k) -критерий, позволяющий определять количество стационаров и предельных циклов для симметричных циклических канонических ГГС (Лихошвай и др., 2003а, б).

Результаты исследования таких идеализированных объектов, как ГГС, напрямую могут найти применение в областях биотехнологии и фармакогенетики, в том числе: при конструировании генных сетей с заранее заданными свойствами; при решении задач поиска оптимальных стратегий управления генными сетями; при конструировании «интеллектуальных» генетических систем (так, например, предложена генная конструкция, позволяющая складывать числа (Golubyatnikov *et al.*, 2003)), способных обеспечивать в организме максимально сбалансированную коррекцию параметров его функционирования (нарушенных, например, вследствие наличия некоторого генетического дефекта или болезни) с целью приведения их к индивидуальной норме.

Моделирование пространственно распределенных систем

Одной из важнейших задач системной биологии является изучение процессов развития организмов. Сложность молекулярно-биологических процессов роста и развития многоклеточных организмов определяет необходимость применения комплексного под-

хода в исследованиях биологии развития многоклеточных организмов, сочетающих в себе как постановку экспериментов, так и теоретический анализ.

Практически на любом этапе развития важнейшими событиями являются формирование градиентов концентраций определенных молекул, обычно растворимых, свободно диффундирующих в клетке или ткани (Корочкин, 1999; Gilbert, 2003). В зависимости от концентрации эти молекулы опосредуют переключение активности тех или иных генов, что может быть началом клеточной дифференцировки и последующего морфогенеза (поэтому такие молекулы называются морфогенами) (Gurdon, Bourillot, 2001).

Функция морфогенов – запуск путей передачи сигналов (в среде, подразделенной на клетки) или регуляция экспрессии генов (в синцитиальной среде). Гены, экспрессия которых регулируется морфогенами или конечными звеньями путей передачи сигналов, могут запускать процессы клеточной дифференцировки (Rossant *et al.*, 2002; Held, 2002). Во многих случаях на самых ранних стадиях развития организмов такие процессы происходят в среде, не подразделенной на компартменты, – в яйцеклетке или синцитии. Например, характерной особенностью раннего эмбриогенеза дрозофилы является прохождение всех молекулярно-биологических процессов в единой клетке, содержащей множество ядер (синцитии) (Nasiadka *et al.*, 2002;

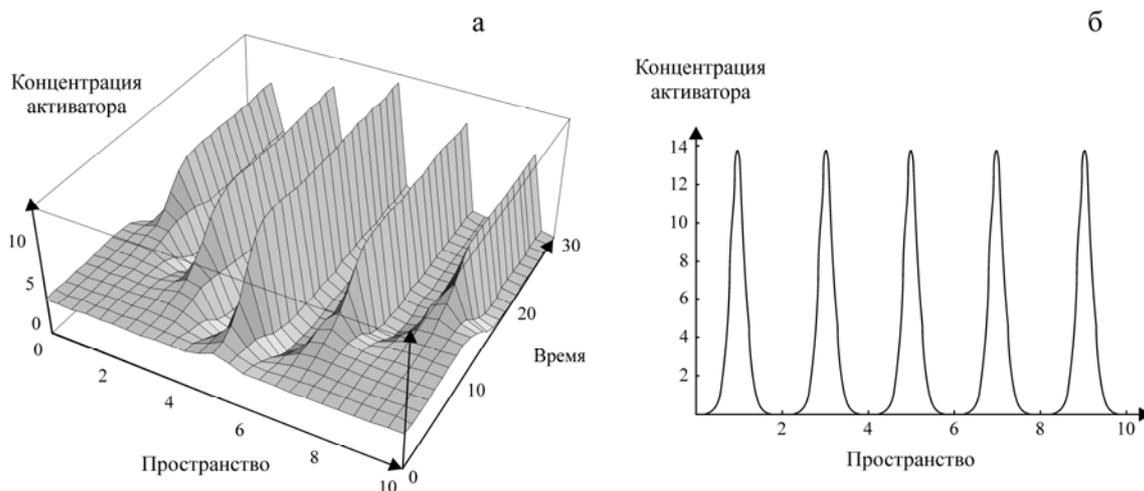


Рис. 11. Формирование пространственно неоднородного распределения концентрации активатора на одномерной области.

а – процесс формирования пространственно неоднородного распределения концентрации активатора на одномерной области, развернутый во времени; б – распределение концентрации на одномерной области в конце счета.

Stathopoulos, Levine, 2002). Для моделирования возникновения градиентов морфогенов применяются непрерывные модели с распределенными параметрами. Впервые для изучения процессов морфогенеза модель с распределенными параметрами была предложена Тьюрингом (Turing, 1951):

$$\begin{cases} \frac{\partial a}{\partial t} = \rho \cdot \frac{a^2}{h} - \mu \cdot a + D_h \frac{\partial^2 a}{\partial x^2} \\ \frac{\partial h}{\partial t} = \rho' \cdot a^2 - \nu \cdot h + D_h \frac{\partial^2 h}{\partial x^2} \end{cases} \quad (8)$$

где a и h – морфогены, которые в соответствии с их «ролями» в динамической модели именуется активатором и ингибитором соответственно. При определенных параметрах эта модель описывает спонтанное возникновение пространственно неоднородного распределения морфогенов из изначально однородного распределения. На рис. 11 представлены результаты моделирования системы Тьюринга.

В последнее время интерес к системе Тьюринга возобновился в связи с рассмотрением её на растущей среде. При этом в случаях достаточной нелинейности наблюдается возникновение новых паттернов распределения концентрации морфогенов (Stampin *et al.*, 2002).

Процесс эмбрионального развития в сре-

де, подразделенной на клетки, например, развитие эмбриона цыпленка характеризуется наличием: 1) так называемых организаторов, групп клеток, координирующих развитие какого-либо зачатка органа, и 2) специфических межклеточных взаимодействий (Корочкин, 1999; Gilbert, 2003). Модели развития подобных систем, кроме непрерывных компонентов, уже нуждаются в учете подразделенности на клетки. Необходимость в этом становится ясной, если учесть, что ответ клеток на морфогены осуществляется: 1) на протяжении некоторого времени; 2) при этом клетки находятся в определенном состоянии и 3) в определенном клеточном окружении (Корочкин, 1999; Gilbert, 2003) Упрощенно развитие клеточного ансамбля можно описать как возникновение/исчезновение клеток определенных типов в том или ином месте и переход клеток одного типа в другой в определенные моменты времени. Для моделирования подобных процессов применяют дискретные модели, такие, как клеточные автоматы (Kumar, Bentley, 1999) и системы Линденмайера (L-системы, L-systems) (Rozenberg, Salomaa, 1980).

Самый простой тип L-системы: детерминированную контекстно свободную L-систему (DOL – системы) формально можно представить как тройку (V, R, s) . Здесь V – алфавит

(в данном контексте – множество типов клеток), R – множество правил переписывания типа $\alpha \rightarrow \sigma$, где α – символ из V , σ – строка из одного или нескольких символов (в данном случае – наблюдаемые переходы клеток из одного типа/состояния в другой или порождение из одной клетки некоторого типа нескольких клеток определенных типов), s – аксиома (начальная клеточная структура).

Динамика системы моделируется переписыванием одновременно всех символов цепочки по правилам из R . В принципе алфавит можно интерпретировать в более крупных морфологических структурах развивающегося организма. Наиболее известным примером применения L-систем является моделирование роста растений (Prusinkiewicz, Lindenmayer, 1990), которое можно представить линейными структурами с ответвлениями. Более сложно моделировать двумерные и трехмерные структуры (Lindenmayer Systems..., 1992). Дальнейшим развитием DOL-систем являются контекстно зависимые, стохастические и параметризованные L-системы. Применение эти модификаций по отдельности и в разных сочетаниях увеличивает мощность L-систем как инструмента для моделирования (Haevre, Bekaert, 2003).

Заключение

Математическое моделирование в биологии за последние 50 лет стало важным инструментом изучения МГС. Начальный этап (начало 60-х – середина 70-х гг. XX в.) развития математического моделирования МГС характеризуется крайне ограниченным экспериментальным материалом о закономерностях функционирования МГС. В связи с этим математические модели описывали не реальные МГС, а некоторые их умозрительные гипотетические конструкции, механизмы и т. д., изучая которые авторы пытались понять качественные закономерности функционирования генетических систем. Ранние работы заложили важный методический фундамент для дальнейшего развития области математического моделирования генетических систем. В применении к МГС были разработаны химико-кинетические, дискретные методы и с их помощью исследованы такие свойства

систем, как множественность состояний, в которых может функционировать МГС.

Следующий этап (середина 1970-х – конец 1990-х гг.) развития математического моделирования МГС характеризуется повышением уровня экспериментальной изученности динамики функционирования ряда генетических систем. Это позволило приступить к разработке математических моделей, воспроизводящих экспериментально полученные количественные характеристики генетических систем. Эти работы потребовали дальнейшего развития методологии моделирования. Возникли новые подходы, в которых объединялись непрерывные, дискретные и стохастические элементы моделирования. Одновременно широко проводились теоретические исследования, которые углубляли понимание закономерностей функционирования генных сетей. Однако в целом математическое моделирование как теоретическое направление оставалось качественным методом и не могло иметь прогностической силы. Мы видим тому несколько причин: 1) отсутствие необходимого объема экспериментальных количественных данных; 2) отсутствие необходимых ресурсов и мощностей вычислительной техники; 3) МГС оказались намного сложнее, чем это казалось на рубеже 1970–1980-х гг.

Современный этап развития математического моделирования характеризуется тем, что в науке произошло два знаменательных события: 1) революция в области вычислительной техники, которая привела к многократному увеличению мощностей компьютеров и развитию качественно новых вычислительных алгоритмов и методов (параллельные вычисления и т. д.); и 2) революция в экспериментальных технологиях получения количественных характеристик функционирования МГС (микрочиповые технологии и др.).

Масштаб задач, стоящих перед системной биологией, в настоящее время вырос на порядки. На современном этапе акцент уже делается на комплексное, системное исследование МГС целых клеток и организмов. Становится актуальной такая масштабная теоретическая задача, как создание «электронной клетки». Появляется необходимость в создании интегрированных компьютерных ресурсов, содержащих базы экспериментальных данных по количественным

и качественным характеристикам функционирования МГС, относящихся к различным уровням их организации, а также средства, поддерживающие весь технологический цикл компьютерного моделирования от этапа первичного анализа экспериментальных данных через стадию формализации и верификации математических моделей вплоть до этапа решения целевых прикладных задач. Важное место в таких системах должны занимать эффективные методы моделирования и анализа генетических систем. Прошедшие периоды развития теоретической биологии обогатили нас широким набором таких подходов и методов.

Новосибирская школа биоинформатики (первоначально – математической биологии), длительное время возглавляемая В.А. Ратнером, внесла существенный вклад в развитие математического моделирования в биологии на всех трех этапах. В настоящее время в Новосибирской школе биоинформатики проводятся широкомасштабные исследования по системной компьютерной биологии. Они ведутся по трем основным направлениям: 1) теоретический анализ фундаментальных молекулярно-генетических систем и процессов, обеспечивающих функционирование генных сетей; 2) структурная компьютерная биология: компьютерный анализ РНК и белков; 3) электронная клетка: компьютерная реконструкция, анализ и моделирование МГС. В рамках каждого из этих направлений формируются базы данных, разрабатываются новые методы исследования, создаются математические и компьютерные модели биологических систем и процессов.

Приложение 1

Перечень общепризнанных подходов, используемых в системной компьютерной биологии, со ссылками на некоторые работы, в которых они используются:

- *Булевы сети* (Weisbuch, 1986; Kauffman, 1993; Somogyi, Sniegoski, 1996; Huang, 1999; Shmulevich, Kauffman, 2004) и *вероятностные Булевы сети* (Shmulevich et al., 2002a, b);
- *обобщенные логические сети* (Thomas, d'Ari, 1990; Thieffry, Thomas, 1995; Thomas et al., 1995; Sanchez et al., 1997; Mendoza et al., 1999);
- *Байесовские сети* ([Friedman et al., 2000; Sachs et al., 2002) и *динамические Байесовские сети* (Ong et al., 2002; Kim et al., 2004);
- *сети Петри* (Reddy et al., 1993; Hofstadt, Meineke, 1995; Peleg et al., 2002; Moore, Hahn, 2003), *стохастические сети Петри* (Goss, Peccoud, 1998), *гибридные сети Петри* (Matsuno et al., 2000), *функциональные гибридные сети Петри* (Doi et al., 2004);
- *нейронные сети* и их обобщения (Taylor, Beiu, 1996; Hanai, Honda, 2004);
- *методы моделирования с использованием линейных дифференциальных уравнений (потокосные методы, constraints-based models)* (Covert, Palsson, 2003; Price et al., 2003; Covert et al., 2004);
- *методы моделирования с использованием кусочно-линейных дифференциальных уравнений* (Glass, 1975a, b; Glass, Pasternack, 1978a, b; Snoussi, 1989; Thomas, d'Ari, 1990; Lewis, Glass, 1991; Snoussi, Thomas, 1993; Plahte et al., 1994, 1998; Mestl et al., 1995b; Glass, Hill, 1998; Edwards, 2000; Edwards, Glass, 2000; Edwards et al., 2001; de Jong et al., 2004; Mason et al., 2004);
- *обобщенный пороговый метод моделирования* (Tchuraev, 1991, Prokudina et al., 1991; Churaev, Galimzyanov, 2001; Tchuraev, Galimzyanov, 2003);
- *подходы, основанные на применении обыкновенных нелинейных дифференциальных уравнений* (Bliss et al., 1982; Goldbeter, 1995; Mestl et al., 1995a, b; Endy et al., 1997; Koh et al., 1998; Carrier, Keasling, 1999; Smolen et al., 2000; Chen et al., 2000, 2004; Novak et al., 2001; Jong, 2002);
- *подходы, основанные на применении обыкновенных нелинейных дифференциальных уравнений с запаздывающим аргументом* (Landahl, 1969; Mahaffy, 1984; MacDonald, 1989; Smolen et al., 2000);
- *обобщенный химико-кинетический метод моделирования* (Likhoshvai et al., 2000; Ratushny et al., 2000a, b; Лихошвай и др., 2001a; Nedosekina et al., 2002; Рагушный и др., 2003; Ratushny et al., 2003);

- подходы, основанные на применении дифференциальных уравнений в частных производных (модели пространственно распределенных систем) (Turing, 1951; Meinhardt, 1977, 1982, 2000, 2004; Bunow, 1980; Gierer, 1981; Britton, 1986; Kauffman, 1993; Mjolsness *et al.*, 1991; Reinitz *et al.*, 1995; Reinitz, Sharp, 1995; Sanchez *et al.*, 1997);
- стохастическое моделирование (Gillespie, 1977; McAdams, Arkin, 1997; Gibson, Bruck, 2000; Gillespie, 2001; Kepler, Elston, 2001; Rao, Arkin, 2003; Rathinam *et al.*, 2003; Turner *et al.*, 2004; Vladimirov, Likhoshvai, 2004).

Приложение 2

Список научных групп, лабораторий, институтов, корпораций и консорциумов, работающих в области системной компьютерной биологии, а также ссылки на некоторые ресурсы по данной тематике:

Молекулярно-генетический сервер

(<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/>)

E-cell (<http://www.e-cell.org>;

<http://ecell.sourceforge.net/>;

<http://www.bioinfo.sfc.keio.ac.jp/>)

CyberCell

(<http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/CCDB/>)

SiliconCell ([http://www.bio.vu.nl/hwconf/](http://www.bio.vu.nl/hwconf/Silicon/index.html)

[Silicon/index.html](http://www.bio.vu.nl/hwconf/Silicon/index.html))

Systems Biology Research Group

(<http://gcrp.ucsd.edu/>)

Arkin Laboratory for Dynamical Genomics

(<http://gobi.lbl.gov/>)

Kitano Symbiotic Systems Project, ERATO,

JST (<http://www.symbio.jst.go.jp>;

<http://www.sbw-sbml.org>)

VTT Biotechnology (<http://sysbio.vtt.fi/>)

Biosystems Group at UCSF

(<http://biosystems.ucsf.edu/>)

Institute for Systems Biology

(<http://www.systemsbio.org/>)

Systems Biology Resource

(<http://www.systems-biology.org/>)

PNNL: The Pacific Northwest National Laboratory (<http://www.sysbio.org/>)

YSBN: The Yeast Systems Biology Network (<http://ysbn.org>)

NRCAM: The National Resource for Cell Analysis and Modeling

(<http://www.nrcam.uchc.edu/>)

Gene Network Inference from Large-Scale Gene Expression Data Resource

(<http://www.cs.unm.edu/~patrik/networks/networks.html>)

Plant Systems Biology Resource

(<http://www.psb.rug.ac.be/>)

Cellular Networks at Notre Dame

(<http://www.nd.edu/~networks/cell/>)

BioPathways Consortium

(<http://www.biopathways.org/>)

EMC²: E. coli Model Cell Consortium

(<http://ecmc2.sdsc.edu/>)

SBML: The Systems Biology Markup Language (<http://www.sbml.org/>)

CellML (<http://www.cellml.org/>)

Genomatica (<http://www.genomatica.com/>)

Cellnomica (<http://www.cellnomica.com/>)

Gene Networks Sciences

(<http://www.gnsbiotech.com/>)

Physiome Sciences

(<http://www.physiome.com/>)

Entelos (<http://www.entelos.com/>)

Languages for Systems Biology (<http://www.luca.demon.co.uk/BioComputing.htm>)

Bio-IT World – Resource and Articles on Systems Biology (<http://www.bio-itworld.com/resources/systems/>)

Приложение 3

Базы данных по регуляторным путям:

GeneNet: Gene Networks Database

(<http://www.sgi.sccc.ru/mgs/gnw/genenet/>)

KEGG: Regulatory Pathways (<http://www.genome.ad.jp/kegg/regulation.html>)

SPAD: Signal Transduction

(<http://www.grt.kyushu-u.ac.jp/spad/>)

CSNDB: Cell Signaling Networks

(<http://geo.nihs.go.jp/csndb/>)

MIPS: Yeast Pathways (<http://www.mips.biochem.mpg.de/proj/yeast/pathways/index.html>)

Interactive Fly: Drosophila Genes (<http://sdb.bio.purdue.edu/fly/aimain/1aahome.htm>)

GeNet: Gene Networks Database (http://www.csa.ru/Inst/gorb_dep/inbios/genet/genet.htm)

HOX-Pro: Homeobox Genes Database (http://www.iephb.nw.ru/labs/lab38/spirov/hox_pro/hox-pro00.html)

Wnt Signaling Pathway (<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html>)

TRANSPATH: Gene Regulatory Pathways (<http://transpath.gbf.de/>)

Базы данных по метаболическим путям:

KEGG: Metabolic Pathways (<http://www.genome.ad.jp/kegg/metabolism.html>)

EMP: Enzymes and Metabolic Pathways (<http://emp.mcs.anl.gov/>)

WIT: Metabolic Reconstruction (<http://wit.mcs.anl.gov/WIT2/>)

UM-BBD: Microbial Biocatalysis/ Biodegradation (<http://umbbd.ahc.umn.edu/>)

BioCyc: Procariotic Genes and Metabolism (<http://biocyc.org/>)

EcoCyc: E. coli Genes and Metabolism (<http://ecocyc.org/>)

HumanCyc: Homo sapiens Genes and Metabolism (<http://humancyc.org/>)

MetaCyc: Metabolism from 150 species (<http://metacyc.org/>)

SoyBase: Soybean Metabolism (<http://cgsc.biology.yale.edu/metab.htm>)

Metalgen: Genes and Metabolism (<http://indigo.genetique.uvsq.fr/>)

Boehringer Mannheim: Biochemical Pathways (<http://www.expasy.ch/cgi-bin/search-biochem-index>)

IUBMB-Nicholson Minimaps (<http://www.tcd.ie/Biochemistry/IUBMB-Nicholson/>)

Базы данных по ферментам, низкомолекулярным веществам и реакциям:

LIGAND: Biochemical Compounds and Reactions (<http://www.genome.ad.jp/ligand/>)

ENZYME: Enzymes (<http://www.expasy.ch/enzyme/>)

BRENDA: Comprehensive Enzyme Information System (<http://www.brenda.uni-koeln.de/>)

Worthington Enzyme Manual

(<http://www.worthington-biochem.com/manual/manIndex.html>)

Klotho: Biochemical Compounds (<http://www.biocheminfo.org/klotho/>)

ChemFinder: Searching Chemicals (<http://chemfinder.camsoft.com/>)

ChemIDplus at NLM (<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>)

PROMISE: Prosthetic Groups and Metal Ions (<http://metallo.scripps.edu/PROMISE/>)

GlycoSuiteDB: Glycan Structure Database (<http://www.glycosuite.com/>)

CarbBank: Complex Carbohydrate Structure Database (<http://bssv01.lancs.ac.uk/gig/pages/gag/carbbank.htm>)

LIPIDBANK: for Web - Lipids (<http://lipidbank.jp/>)

WebElements: Periodic Table (<http://www.webelements.com/>)

PDB: Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>)

Базы данных по белок-белковым взаимодействиям:

BRITE: Database for Biomolecular Relations (<http://www.genome.ad.jp/brite/>)

DIP: Database of Interacting Proteins (<http://dip.doe-mbi.ucla.edu/>)

BIND: Biomolecular Interaction Network Database (<http://www.binddb.org/>)

Базы данных по транскрипционным факторам:

TRRD: Transcription Regulatory Regions Database (<http://www.sgi.ssc.ru/mgs/gnw/trrd/>)

TRANSFAC: Transcription Factor Database (<http://transfac.gbf.de/TRANSFAC/index.html>)

RegulonDB: E. coli Transcriptional Regulation (http://www.cifn.unam.mx/Computational_Genomics/regulondb)

DBTBS: B. subtilis Transcription Factors (<http://elmo.ims.u-tokyo.ac.jp/dbtbs/>)

SCPD: S. cerevisiae Promoter Database (<http://cgsigma.cshl.org/jian/>)

DPInteract: DNA binding proteins (<http://arep.med.harvard.edu/dpinteract/>)

Базы данных по паттернам экспрессии генов:

Axeldb: *Xenopus laevis* (<http://www.dkfz-heidelberg.de/abt0135/axeldb.htm>)

NEXTDB: *Caenorhabditis elegans* (<http://nematode.lab.nig.ac.jp/>)

MAGEST: *Halocynthia roretzi* (<http://www.genome.ad.jp/magest/>)

Благодарности

Работа частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (№ 02-04-48802, 02-07-90359, 03-01-00328, 03-04-48506, 03-04-48829, 03-07-96833, 04-01-00458, 05-07-98011, 05-07-98012, 05-04-08084), Российским Министерством промышленности, науки и техники (№ 43.073.1.1.1501), Сибирским отделением Российской академии наук, проект № 10.4 и Интеграционным проектом № 119, государственным контрактом № 10002-251/П-25/155-270/200404-082, NSF:FIBR No. EF-0330786.

Литература

- Бажан С.И., Лихошвай В.А., Белова О.Е. Теоретический анализ возможных механизмов индукции интерферона при прайминге и блокинге // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1993. Т. 116, № 9. С. 279–283.
- Бажан С.И., Лихошвай В.А. Математическая модель регуляции внутриклеточного онтогенеза вируса гриппа // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Математическое моделирование системы иммунитета и инфекционного процесса». 1989. С. 9–10.
- Демиденко Г.В., Колчанов Н.А., Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Фадеев С.И. Математическое моделирование регулярных контуров генных сетей // Журн. вычислительной математики и математической физики. 2004. Т. 44, № 10. С. 1921–1940.
- Кананян Г.Х., Ратнер В.А., Чураев Р.Н. Расширенная модель онтогенеза фага I // Математические модели молекулярно-генетических систем управления. Новосибирск: ИЦиГ, 1979. С. 102–123.
- Когай В.В., Фадеев С.И., Лихошвай В.А. О численном исследовании автоколебаний в гипотетических генных сетях // Журн. вычислительные технологии. 2005. Т. 10, № 3. С. 56–71 (принята в печать).
- Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. М.: Наука, 1999.
- 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 // Молекуляр. биология. 2001а. Т. 35, № 6. С. 1072–1079.
- Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Фадеев С.И. О связи графа генной сети с качественными режимами ее функционирования // Молекуляр. биология. 2001б. Т. 35, № 6. С. 1080–1087.
- Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Фадеев С.И. Задачи теории функционирования генных сетей // Сиб. журн. индустриальной математики. 2003а. Т. 6, № 2(14). С. 64–80.
- Лихошвай В.А., Фадеев С.И. О гипотетических генных сетях // Сиб. журн. индустриальной математики. 2003б. Т. 6, № 3(15). С. 134–153.
- Лихошвай В.А., Фадеев С.И., Демиденко Г.В., Матушкин Ю.Г. Моделирование многостадийного синтеза вещества без ветвления уравнением с запаздывающим аргументом // Сиб. журн. индустриальной математики. 2004. Т. 7, № 1(17). С. 73–94.
- Полетаев И.А. Модели Вольтерра «хищник–жертва» и некоторые их обобщения с использованием принципа Либиха // Журн. общ. биологии. 1973. Т. 34, № 1. С. 43.
- Ратнер В.А. Генетические системы управления. Новосибирск: Наука, 1966.
- Ратнер В.А. Молекулярно-генетические системы управления. Новосибирск: Наука, 1975.
- Ратнер В.А., Куличков В.А. Возможный путь возникновения сцепленных многооперонных систем путем объединения кольцевых плазмид // Исследования по математической генетике. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1975. С. 169–190.
- 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. АН. 2003. Т. 389, № 2. С. 90–93.
- Ратушный А.В., Лихошвай В.А., Игнатъева Е.В., Матушкин Ю.Г., Колчанов Н.А. Компьютерное моделирование генных сетей: исследование влияния мутаций // Молекулярная генетика, биофизика и медицина сегодня (Бреслеровские чтения) / Ред. В.А. Ланцов. С.-Петербург / Гатчина: изд-во ПИЯФ РАН, 2002. С. 169–184.
- Чернавский А.С. Модели клеточного переключения // Математическое моделирование в биофизике. М.: Наука, 1975. С. 98–121.
- Чураев Р.Н., Ратнер В.А. Моделирование молекулярно-генетических систем управления на языке теории автоматов. Сообщ. I. Опероны и оперонные системы // Исследования по теоретической генетике. Новосибирск: ИЦиГ СО

- АН СССР, 1972. С. 210–228.
- Чураев Р.Н. Математико-логические модели молекулярных // Исследования по теоретической генетике. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1975. С. 67–76.
- Чураев Р.Н., Ратнер В.А. Моделирование динамики системы управления развитием I-фага // Исследования по теоретической генетике. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1975. С. 5–66.
- Шамин В.В., Куличков В.А. Возможный путь возникновения сцепленных многооперонных систем путем объединения кольцевых плазмид. Сообщение II. Об условиях эволюционного закрепления молекулярного триггера // Математические модели эволюции и селекции. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1977. С. 97–110.
- 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 // *Nucleic Acids Res.* 2005. V. 33/ Database Issue: D425-7.
- Batagelj V., Mrvar A. Pajek-program for large network analysis // *Connections.* 1998. V. 21. P. 47–57.
- Bazhan S.I., Likhoshvai V.A., Belova O.E. Theoretical analysis of the regulation of interferon expression during priming and blocking // *J. of Theor. Biol.* 1995. V. 175. P. 149–160.
- 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 // *CABIOS.* 1995. V. 11, N 2. P. 213–218.
- Bliss R.D., Painter P.R., Marr A.G. Role of feedback inhibition in stabilizing the classical operon // *J. Theor. Biol.* 1982. V. 97, N 2. P. 177–193.
- Britton N.F. *Reaction-Diffusion Equations and Their Applications to Biology.* London: Academic Press, 1986.
- Brown M.S., Goldstein J.L. The LDL receptor concept: clinical and therapeutic implications // *Atheroscler Rev.* 1988. V. 18. P. 85–93.
- Bunow B., Kernevez J.P., Joly G., Thomas D. Pattern formation by reaction-diffusion instabilities: application to morphogenesis in *Drosophila* // *J. Theor. Biol.* 1980. V. 84, N 4. P. 629–649.
- Carrier T.A., Keasling J.D. Investigating autocatalytic gene expression systems through mechanistic modeling // *J. Theor. Biol.* 1999. V. 201, N 1. P. 25–36.
- Chen K.C., Calzone L., Csikasz-Nagy A., Cross F.R., Novak B., Tyson J.J. Integrative analysis of cell cycle control in budding yeast // *Mol. Biol. Cell.* 2004. V. 15, N 8. P. 3841–3862. Epub. 2004. May 28.
- Chen K.C., Csikasz-Nagy A., Gyorffy B., Val J., Novak B., Tyson J.J. Kinetic analysis of a molecular model of the budding yeast cell cycle // *Mol. Biol. Cell.* 2000. V. 11, N 1. P. 369–91.
- Churaev R.N., Galimzianov A.V. Modeling real eukaryotic control gene subnetworks based on generalized threshold models // *Mol. Biol. (Mosk.).* 2001. V. 35, N 6. P. 1088–1094.
- 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, (6987). P. 92–96.
- Covert M.W., Palsson B.O. Constraints-based models: regulation of gene expression reduces the steady-state solution space // *J. Theor. Biol.* 2003. V. 221, N 3. P. 309–325.
- Crampin E.J. *et al.* Pattern Formation in Reaction–Diffusion Models with Nonuniform Domain Growth // *Bul. of Mathem. Biol.* 2002. V. 64. P. 747–769.
- Doi A., Fujita S., Matsuno H., Nagasaki M., Miyano S. Constructing biological pathway models with hybrid functional Petri nets // *In Silico Biol.* 2004. V. 4, N 2. 0023 [Epub ahead of print]
- Edwards R. Analysis of continuous-time switching networks // *Physica D.* 2000. V. 146. P. 165–199.
- Edwards R., Glass L. Combinatorial explosion in model gene networks // *Chaos.* 2000. V. 10, N 3. P. 691–704.
- Edwards R., Siegelmann H.T., Aziza K., Glass L. Symbolic dynamics and computation in model gene networks // *Chaos.* 2001. V. 11, N 1. P. 160–169.
- Endy D., Brent R. Modelling cellular behaviour // *Nature.* 2001. V. 409, N 6818. P. 391–395.
- Endy D., Kong D., Yin J. Intracellular kinetics of a growing virus: a genetically structured simulation for bacteriophage T7 // *Biotechnology and Bioengineering.* 1997. V. 55, N 2. P. 375–389.
- Friedman N., Linial M., Nachman I., Pe'er D. Using Bayesian networks to analyze expression data // *J. Comput. Biol.* 2000. V. 7, N 3/4. P. 601–620.
- Gibson M.A., Bruck J. Efficient exact stochastic simulation of chemical systems with many species and many channels // *J. Phys. Chem.* 2000. V. 104. P. 1876–1889.
- Gierer A. Generation of biological patterns and form: Some physical, mathematical, and logical aspects // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1981. V. 37. P. 1–47.
- Gilbert S.F. *Developmental Biology*, 7th Edition, 2003, Sinauer Associates Inc. Sunderland, MA.
- Gillespie D. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions // *J. Phys. Chem.* 1977. V. 81. P. 2340–2361.
- Gillespie D.T. Approximate accelerated stochastic simulation of chemically reacting systems // *J. Chem. Phys.* 2001. V. 115. P. 1716–1733.

- Glass L. Classification of biological networks by their qualitative dynamics // *J. Theor. Biol.* 1975a. V. 54, N 1. P. 85–107.
- Glass L. Combinatorial and topological methods in nonlinear chemical kinetics // *J. Chem. Phys.* 1975b. V. 63, N 4. P. 1325–1335.
- Glass L. Global analysis of nonlinear chemical kinetics // *Statistical Mechanics. Part B: Time Dependent Processes*. P. 311–349 / Ed. B. Berne. N.Y.: Plenum Press, 1977.
- Glass L., Hill C. Ordered and disordered dynamics in random networks // *Europhys. Lett.* 1998. V. 41, N 6. P. 599–604.
- Glass L., Kauffman S.A. The logical analysis of continuous, non-linear biochemical control networks // *J. Theor. Biol.* 1973. V. 39. P. 103–129.
- Glass L., Pasternack J.S. Prediction of limit cycles in mathematical models of biological oscillations // *B. Math. Biol.* 1978a. V. 40. P. 27–44.
- Glass L., Pasternack J.S. Stable oscillations in mathematical models of biological control systems // *J. Math. Biol.* 1978b. V. 6. P. 207–223.
- Gimpl G., Burger K., Fahrenholz F. A closer look at the cholesterol sensor // *Trends Biochem. Sci.* 2002. V. 27, N 12. P. 596–599.
- Goldbeter A. A model for circadian oscillations in the *Drosophila* period protein (PER) // *Proc. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 1995. V. 261, N 1362. P. 319–324.
- Goldstein J.L., Brown M.S. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis (Review) // *Annu. Rev. Biochem.* 1977. V. 46. P. 897–930.
- Goldstein J.L., Dana S.E., Faust J.R., Beaudet A.L., Brown M.S. Role of lysosomal acid lipase in the metabolism of plasma low density lipoprotein. Observations in cultured fibroblasts from a patient with cholesteryl ester storage disease // *J. Biol. Chem.* 1975. V. 250. P. 8487–8495.
- Golubyatnikov V., Likhoshvai V., Fadeev S., Matushkin Yu., Ratushny A., Kolchanov N. Mathematical and Computer modeling of genetic networks // *Proc. of the 6-th Intern. Conf. Human and Computer (HC-2003)*, August 28–30, 2003. University of Aizu, Japan, 2003. P. 200–205.
- Goss P.J., Peccoud J. Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95, N 12. P. 6750–6755.
- Gurdon J.B., Bourillot P.Y. Morphogen gradient interpretation // *Nature.* 2001. V. 413, 25 Oct. P. 797–803.
- Guryeva Ya.P., Stepanenko I.L., Likhoshvai V.A. Mathematical model of the gene network of TNF α -induced NF-kappaB activation // *Proc. IV Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (BGRS'2004)*. 2004. V. 2. P. 64–67.
- Haevre W. van, Bekaert P. A Simple but Effective Algorithm to Model the Competition of Virtual Plants for Light and Space. http://wscg.zcu.cz/wscg2003/Papers_2003/G47.pdf
- Hanai T., Honda H. Application of knowledge information processing methods to biochemical engineering, biomedical and bioinformatics fields // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2004. V. 91. P. 51–73.
- Hasty J. McMillen D., Isaacs F., Collins J.J. Computational studies of gene regulatory networks: in numero molecular biology // *Nat. Rev. Genet.* 2001. V. 2, N 4. P. 268–279.
- Held L.I. Imaginal discs: the genetic and cellular logic of pattern formation. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2002. 476 p.
- Hofstadt R., Meineke F. Interactive modelling and simulation of biochemical networks // *Comput. Biol. Med.* 1995. V. 25, N 3. P. 321–334.
- Horton J.D., Goldstein J.L., Brown M.S. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 109, N 9. P. 1125–31.
- Horton J.D., Shah N.A., Warrington J.A., Anderson N.N., Park S.W., Brown M.S., Goldstein J.L. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100, N 21. P. 12027–12032.
- Huang S. Gene expression profiling, genetic networks, and cellular states: An integrating concept for tumorigenesis and drug discovery // *J. Mol. Med.* 1999. V. 77. P. 469–480.
- Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins // *J. Mol. Biol.* 1961. V. 3. P. 318–356.
- Jacob F., Monod J. Genetic repression, allosteric inhibition and cellular differentiation // *Cytodifferentiation and macromolecular synthesis*. N.Y., 1963.
- Jong H. de. Modeling and simulation of genetic regulatory systems: a literature review // *J. Comput. Biol.* 2002. V. 9, N 1. P. 67–103.
- Jong H. de, Gouze J.L., Hernandez C., Page M., Sari T., Geiselmann J. Qualitative simulation of genetic regulatory networks using piecewise-linear models // *Bull. Math. Biol.* 2004. V. 66, N 2. P. 301–40.
- Kananyan G.Kh., Ratner V.A., Tchuraev R.N. Enlarged model of lambda phage ontogenesis // *J. Theor. Biol.* 1981. V. 88, N 3. P. 393–407.
- Kauffman S.A. Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets // *J. Theor. Biol.* 1969a. V. 22, N 3. P. 437–467.
- Kauffman S.A. Homeostasis and differentiation in random genetic control networks // *Nature.* 1969b. V. 224, N 215. P. 177–178.

- Kauffman S.A. The large scale structure and dynamics of gene control circuits: an ensemble approach // *J. Theor. Biol.* 1974. V. 44, N 1. P. 167–190.
- Kauffman S.A. Gene regulation networks: A theory for their global structure and behaviors // *Current Topics in Developmental Biology*. N.Y.: Academic Press, 1977. V. 6. P. 145–182.
- Kauffman S.A. *The Origins of Order: Self-Organization and Selection in Evolution*. N.Y.: Oxford Univ. Press, 1993.
- Kepler T.B., Elston T.C. Stochasticity in transcriptional regulation: origins, consequences, and mathematical representations // *Biophys J.* 2001. V. 81, N 6. P. 3116–3136.
- Khandurina J., Guttman A. Microchip-based high-throughput screening analysis of combinatorial libraries // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2002. V. 6, N 3. P. 359–366.
- Kim S., Imoto S., Miyano S. Dynamic Bayesian network and nonparametric regression for nonlinear modeling of gene networks from time series gene expression data // *Biosystems*. 2004. V. 75, N 1/3. P. 57–65.
- Koh B.T., Tan R.B., Yap M.G. Genetically structured mathematical modeling of trp attenuator mechanism // *Biotechnol. Bioeng.* 1998. V. 58, N 5. P. 502–509.
- Kumar S., Bentley P.J. The abcs of evolutionary design: Investigating the evolvability of embryogenies for morphogenesis // *Proc. of GECCO*. 1999. Orlando, USA.
- Landahl H.D. Some conditions for sustained oscillations in biochemical chains // *B. Math. Biophys.* 1969. V. 31. P. 775–787.
- Lewis J.E., Glass L. Steady states, limit cycles, and chaos in models of complex biological networks // *Int. J. Bifurcat. Chaos*. 1991. V. 1, N 2. P. 477–483.
- Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G. Computer model for analysis of evolutionary drift of synonymous codons along mRNA // *Computational Technologies*. 2000. V. 5, N 2. P. 57–63.
- Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G. Differentiation of single-cell organisms according to elongation stages crucial for gene expression efficacy // *FEBS Letters*. 2002. V. 516. P. 87–92.
- 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 // *Computat. Technol.* 2000. V. 5, N 2. P. 87–99.
- Lindenmayer Systems: Impacts on theoretical computer science, computer graphics, and developmental biology / Ed. G. Rozenberg, A. Salomaa. Berlin: Springer-Verlag, 1992.
- MacDonald N. *Biological Delay Systems: Linear Stability Theory*. Cambridge: Cambr. Univ. Press, 1989.
- Mahaffy J.M. Cellular control models with linked positive and negative feedback and delays: I. The models // *J. Math. Biol.* 1984. V. 106. P. 89–102.
- Mason J., Linsay P.S., Collins J.J., Glass L. Evolving complex dynamics in electronic models of genetic networks // *Chaos*. 2004. V. 14, N 3. P. 707–715.
- Matsuno H., Doi A., Nagasaki M., Miyano S. Hybrid Petri net representation of gene regulatory network // *Pac. Symp. Biocomput.* 2000. P. 341–352.
- McAdams H.H., Arkin A. Stochastic mechanisms in gene expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94, N 3. P. 814–819.
- McAdams H.H., Arkin A. Simulation of prokaryotic genetic circuits // *Annu Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 1998. V. 27. P. 199–224.
- Meinhardt H. A model of pattern formation in insect embryogenesis // *J. Cell Sci.* 1977. V. 23. P. 177–139.
- Meinhardt H. *Models of Biological Pattern Formation*. London: Academic Press, 1982.
- Meinhardt H., Gierer A. Pattern formation by local self-activation and lateral inhibition // *Bioessays*. 2000. V. 22, N 8. P. 753–760.
- Meinhardt H. Models for the generation of the embryonic body axes: ontogenetic and evolutionary aspects // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2004. V. 14, N 4. P. 446–454.
- Mendoza L., Thieffry D., Alvarez-Buylla E.R. Genetic control of flower morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*: a logical analysis // *Bioinformatics*. 1999. V. 15, N 7/8. P. 593–606.
- Mestl T., Plahte E., Omholt S.W. A mathematical framework for describing and analysing gene regulatory networks // *J. Theor. Biol.* 1995a. V. 176, N 2. P. 291–300.
- Mestl T., Plahte E., Omholt S.W. Periodic solutions in systems of piecewise-linear differential equations // *Dynam. Stabil. Syst.* 1995b. V. 10, N 2. P. 179–193.
- Mjolsness E., Sharp D.H., Reinitz J. A connectionist model of development // *J. Theor. Biol.* 1991. V. 152, N 4. P. 429–453.
- Moore J.H., Hahn L.W. Petri net modeling of high-order genetic systems using grammatical evolution // *Biosystems*. 2003. V. 72, N 1/2. P. 177–186.
- Nasiadka A., Dietrich B.H., Krause H.M. Anterior-posterior patterning in the *Drosophila* embryo. Advances in developmental biology and biochemistry. V. 12: Gene expression at the beginning of animal development / Ed. M.L. DePamphilis. Amsterdam; N.Y.: Elsevier, 2002. P. 155–204.
- Nedosekina E.A., Ananko E.A., Likhoshvai V.A. Construction of mathematical model of the gene network on macrophage activation under the

- action of IFN-g and LPS // Proc. of the 3rd Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. 2002. V. 2. P. 154–156.
- Novak B., Pataki Z., Ciliberto A., Tyson J.J. Mathematical model of the cell division cycle of fission yeast // Chaos. 2001. V. 11, N 1. P. 277–286.
- Ong I.M., Glasner J.D., Page D. Modelling regulatory pathways in *E. coli* from time series expression profiles // Bioinformatics. 2002. V. 18. Suppl. 1. S241–248.
- Peleg M., Yeh I., Altman R.B. Modelling biological processes using workflow and Petri Net models // Bioinformatics. 2002. V. 18, N 6. P. 825–837.
- Plahte E., Mestl T., Omholt S.W. Global analysis of steady points for systems of differential equations with sigmoid interactions // Dynam. Stabil. Syst. 1994. V. 9, N 4. P. 275–291.
- Plahte E., Mestl T., Omholt S.W. A methodological basis for description and analysis of systems with complex switch-like interactions // J. Math. Biol. 1998. V. 36, N 4. P. 321–348.
- Price N.D., Papin J.A., Schilling C.H., Palsson B.O. Genome-scale microbial in silico models: the constraints-based approach // Trends Biotechnol. 2003. V. 21, N 4. P. 162–169.
- Prokudina E.I., Valeev R.Yu., Tchuraev R.N. A new method for the analysis of the dynamics of the molecular genetic control systems. II. Application of the method of generalized threshold models in the investigation of concrete genetic systems // J. Theor. Biol. 1991. V. 151, N 1. P. 89–110.
- Prusinkiewicz P., Lindenmayer A. The Algorithmic Beauty of Plants. N.Y.: Springer-Verlag, 1990.
- Rao C.V., Arkin A.P. Stochastic chemical kinetics and the quasi-steady-state assumption: Application to the Gillespie algorithm // J. Chem. Phys. 2003. V. 118. P. 4999–5010.
- Rathinam M., Petzold L.R., Cao Y., Gillespie D.T. Stiffness in stochastic chemically reacting systems: The implicit tau-leaping method // J. Chem. Phys. 2003. V. 119. P. 12784–12794.
- Ratushny A.V., Ignatieva E.V., Likhoshvai V.A. Computer Dynamic Modeling of the Gene Network Controlling Intracellular Cholesterol Homeostasis // Bioinformatics of genome regulation and structure / Ed. N. Kolchanov, R. Hofstaedt. Boston–Dordrecht–London: Kluwer Acad. Publ., 2004. P. 293–300.
- Ratushny A.V., Ignatieva E.V., Matushkin Yu.G., Likhoshvai V.A. Mathematical model of cholesterol biosynthesis regulation in the cell // Proc. of the second international conference on bioinformatics or genome regulation and structure. 2000a. V. 1. P. 199–202.
- Ratushny A.V., Likhoshvai V.A. Computer analysis of the effects of mutations in LDL receptor gene on the regulation of cholesterol biosynthesis in the cell // Proc. of the 3rd Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. Novosibirsk, 2002. V. 2. P. 150–153.
- Ratushny A.V., Likhoshvai V.A., Ignatieva E.V., Kolchanov N.A. Resilience of Cholesterol Concentration to a Wide Range of Mutations in the Cell // Complexus. 2003. V. 1. P. 142–148.
- Ratushny A.V., Likhoshvai V.A., Kolchanov N.A. Analysis of mutational portraits of gene networks // Proc. of the 3rd Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. Novosibirsk, 2002. V. 2. P. 157–159.
- Ratushny A.V., Podkolodnaya O.A., Ananko E.A., Likhoshvai V.A. Mathematical model of erythroid cell differentiation regulation // Proc. of the 2nd Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. 2000b. V. 1. P. 203–206.
- Reddy V.N., Mavrovouniotis M.L., Liebman M.N. Petri net representations in metabolic pathways // Proc. Intern. Conf. Intell. Syst. Mol. Biol. 1993. V. 1. P. 328–336.
- Reinitz J., Mjolsness E., Sharp D.H. Model for cooperative control of positional information in *Drosophila* by bicoid and maternal hunchback // J. Exp. Zool. 1995. V. 271, N 1. P. 47–56.
- Reinitz J., Sharp D.H. Mechanism of eve stripe formation // Mech. Dev. 1995. V. 49, N 1/2. P. 133–58.
- Rossant J., Tam P., Tam P. P. Mouse Development: Patterning, Morphogenesis, and Organogenesis. San Diego: Acad. Press, 2002. 736 p.
- Rozenberg G., Salomaa A. The mathematical theory of L systems, volume 90 of Pure and Applied Mathematics. Acad. Press, 1980.
- Ruckenstein E., Simon Z. Regulation and synthesis in the living cell. I. Kinetics of ribonucleic acid synthesis // J. Theor. Biol. 1966. V. 11, N 2. P. 282–298.
- Sachs K., Gifford D., Jaakkola T., Sorger P., Lauffenburger D.A. Bayesian network approach to cell signaling pathway modeling // Sci. STKE. 2002. 2002(148):PE38. Print 2002.
- Sanchez L., van Helden J., Thieffry D. Establishment of the dorso-ventral pattern during embryonic development of *Drosophila melanogaster*: a logical analysis // J. Theor. Biol. 1997. V. 189, N 4. P. 377–389.
- Savageau M.A. Comparison of classical and autogenous systems of regulation in inducible operons // Nature. 1974. V. 252, N 5484. P. 546–549.
- Shmulevich I., Dougherty E.R., Kim S., Zhang W. Probabilistic Boolean Networks: a rule-based uncertainty model for gene regulatory networks // Bioinformatics. 2002a. V. 18, N 2. P. 261–274.
- Shmulevich I., Dougherty E.R., Zhang W. Gene perturbation and intervention in probabilistic

- Boolean networks // Bioinformatics. 2002b. V. 18, N 10. P. 1319–1331.
- Shmulevich I., Kauffman S.A. Activities and sensitivities in boolean network models // Phys. Rev. Lett. 2004. V. 93, N 4. 048701. Epub 2004 Jul 22.
- Simon Z. Multi-steady-state model for cell differentiation // J. Theor. Biol. 1965. V. 8, N 2. P. 258–263.
- Simon Z., Ruckenstein E. Regulation and synthesis processes in the living cell. 3. Interrelated operon triggers as elements of the cellular automaton // J. Theor. Biol. 1966. V. 11, N 2. P. 314–333.
- Simon Z. Bacterial cell model. Cell cycle parameters and macromolecular synthesis // J. Theor. Biol. 1973. V. 38, N 1. P. 39–49.
- 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, N 2. P. 247–292.
- Snoussi E.H. Qualitative dynamics of piecewise-linear differential equations: A discrete mapping approach // Dynam. Stabil. Syst. 1989. V. 4, N 3/4. P. 189–207.
- Snoussi E.H., Thomas R. Logical identification of all steady states: The concept of feedback loop characteristic states // Bull. Math. Biol. 1993. V. 55, N 5. P. 973–991.
- Somogyi R., Sniegoski C.A. Modeling the complexity of genetic networks: Understanding multi-genic and pleiotropic regulation // Complexity. 1996. V. 1, N 6. P. 45–63.
- Stathopoulos A., Levine M. Dorsal gradient networks in the drosophila embryo // Developm. Biol. 2002. V. 246, 1. P. 57–67.
- Sugita M. Functional analysis of chemical systems *in vivo* using a logical circuit equivalent // J. Theor. Biol. 1961. V. 1. P. 415–430.
- Sugita M. Functional analysis of chemical systems *in vivo* using a logical circuit equivalent. II. The idea of a molecular automation // J. Theor. Biol. 1963. V. 4, N 2. P. 179–192.
- Sugita M., Fukuda N. Functional analysis of chemical systems *in vivo* using a logical circuit equivalent. 3. Analysis using a digital circuit combined with an analogue computer // J. Theor. Biol. 1963. V. 5, N 3. P. 412–425.
- Taylor J.G., Beiu V. On the Circuit Complexity of Sigmoid Feedforward Neural Networks // Neural Netw. 1996. V. 9, N 7. P. 1155–1171.
- Tchuraev R.N. A new method for the analysis of the dynamics of the molecular genetic control systems. I. Description of the method of generalized threshold models // J. Theor. Biol. 1991. V. 151, N 1. P. 71–87.
- Tchuraev R.N., Galimzyanov A.V. Parametric stability evaluation in computer experiments on the mathematical model of Drosophila control gene subnetwork // In Silico Biol. 2003. V. 3, N 1/2. P. 101–15. Epub. 2003. Mar. 30.
- Thomas R. Boolean formalization of genetic control circuits // J. Theor. Biol. 1973. V. 42, N 3. P. 563–585.
- Thomas R., d'Ari R. Biological Feedback. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.
- Thomas R., Thieffry D., Kaufman M. Dynamical behaviour 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, N 2. P. 247–276.
- Turing A.M. The chemical basis of morphogenesis // Philos. T. Roy. Soc. B. 1951. V. 237. P. 37–72.
- Turner T.E., Schnell S., Burrage K. Stochastic approaches for modelling *in vivo* reactions // Comput. Biol. Chem. 2004. V. 28, N 3. P. 165–178.
- Vladimirov N.V., Likhoshvai V.A. Stochastic model of translation elongation based on continuous time Monte Carlo method // Proc. IV Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (BGRS'2004). 2004. V. 2. P. 159–162.
- Walter C., Parker R., Ycas M. A model for binary logic in biochemical systems // J. Theor. Biol. 1967. V. 15, N 2. P. 208–217.
- Wilson H.R., Archer C.D., Liu J.K., Turnbough C.L. Jr. Translational control of pyrC expression mediated by nucleotide-sensitive selection of transcriptional start sites in *Escherichia coli* // J. Bacteriol. 1992. V. 174, N 2. P. 514–524.