

УДК: 575.112

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО МОДЕЛЮВАННЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ШЛЯХІВ ПРОКАРІОТИЧНИХ ОРГАНІЗМІВ

Пономаренко Діана Ігорівна

ponomarenko-fbmi@lil.kpi.ua

Бесараб Олександр Борисович

besarab@lil.kpi.ua

Беспалова Олена Ярославівна

bespalova.olena@lil.kpi.ua

Галкін Олександр Юрійович

a.galkin@lil.kpi.ua

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Анотація – Моделювання у масштабі геному (genome-scale metabolic modeling, GEM) виступає ключовим інструментом для системного аналізу метаболізму прокаріотичних організмів. Воно дозволяє охопити весь спектр біохімічних реакцій, пов'язаних із функціонуванням клітини, та ефективно прогнозувати її поведінку за різних умов. Особливу роль у цьому процесі відіграє аналіз балансу потоків (Flux Balance Analysis, FBA), який базується на побудові стехіометричних моделей і дає змогу розрахувати розподіл потоків метаболітів у мережі з урахуванням заданої цільової функції. Водночас, чутливість FBA до вибору мети моделювання є критичним обмеженням, яке знижує універсальність методу, особливо у випадку складних або гетерогенних середовищ.

Поєднання FBA з методами генної інженерії суттєво розширює його можливості: шляхом модифікацій генотипу можна цілеспрямовано перенаправляти метаболічні потоки, що дозволяє підвищити біосинтетичний потенціал мікроорганізмів. Це особливо актуально для промислової біотехнології, де ведуться розробки нових штамів-продуцентів біопрепаратів, ферментів, біопалива та інших цінних метаболітів.

Протягом останнього десятиліття розвиток технологій секвенування та функціональної анотації геномів значно розширив базу для побудови високоточної метаболічної реконструкції. Сучасні підходи поєднують геномні, транскриптомні, метаболомні та протеомні дані з потужними алгоритмами обробки, що дозволяє створювати контекстозалежні, верифіковані експериментально моделі метаболізму. Такі моделі використовуються не лише в базових наукових дослідженнях, а й у клінічній практиці – наприклад, для персоналізованої медицини, прогнозування дії антибіотиків або розробки мікробних консорціумів для терапевтичного застосування.

У цьому контексті особливу актуальність набуває систематичний аналіз сучасних методологічних підходів до моделювання метаболічних шляхів прокаріотичних організмів із залученням відповідних інструментів, баз даних та платформ, що забезпечують надійність, масштабованість і практичну придатність створюваних моделей.

Ключові слова: біоінформатика, моделювання, біосинтез, біологічно активні речовини, метаболічна реконструкція, прокаріоти

I. ВСТУП

Моделювання метаболічних шляхів на основі геномних даних є ключовим напрямом сучасної системної біології, що дозволяє здійснювати цілісний аналіз метаболізму клітини, оцінювати її функціональні можливості та передбачати поведінку в різних умовах. Застосування таких моделей охоплює не лише фундаментальні дослідження, а й широкий спектр прикладних задач. Зокрема, у медичній сфері моделювання метаболізму прокаріотів сприяє ідентифікації потенційних терапевтичних мішеней,

прогнозуванню дії антимікробних препаратів, вивченню взаємодії мікробіому з організмом людини, а також розробці персоналізованих стратегій лікування інфекційних та метаболічних захворювань. У галузі біотехнології ці моделі застосовуються для конструювання продуктивних штамів-продуцентів, оптимізації біосинтезу цільових сполук, розробки пробіотичних консорціумів і проєктування синтетичних метаболічних ланцюгів. Найчастіше для прогнозування метаболічних потоків у моделях геномного масштабу застосовують аналіз балансу

потоків (FBA – Flux Balance Analysis), хоча результати такого аналізу залежать від клітинної мети, визначеної дослідником. Альтернативою FBA є метод вибірки потоку (flux sampling), який дозволяє охопити широкий спектр можливих метаболічних потоків у мікробній спільноті. Важливо, що цей підхід також може враховувати додаткову гетерогенність популяції, особливо коли клітини ростуть з субмаксимальними темпами [1,2].

Метаболізм клітини являє собою складну систему з саморегуляцією, яка охоплює сотні й навіть тисячі реакцій. Сьогодні завдяки накопиченню експериментальних даних про метаболічні процеси можна створювати математичні моделі метаболічних мереж. Зазвичай один біосинтетичний продукт може бути отриманий кількома альтернативними шляхами. За допомогою математичного моделювання можна визначити й дослідити різні способи синтезу необхідних продуктів та обрати серед них оптимальний варіант відповідно до конкретних завдань.

За допомогою результатів оптимізації та аналізу моделі можна, використовуючи методи генної інженерії, вносити відповідні зміни до генотипу клітин, що сприяє перерозподілу метаболічних потоків і, як наслідок, збільшенню виходу бажаного метаболіту. Протягом останніх років було створено генетичні карти багатьох простих організмів. Розшифрування геномів різних видів дало поштовх до розвитку нової галузі – функціональної геноміки, яка зосереджена на вивченні функцій конкретних генних послідовностей у життєдіяльності організмів. [1].

Моделювання метаболічних шляхів прокаріотичних мікроорганізмів є надзвичайно активним і стрімко зростаючим напрямом у системній біології, метою якого є перетворення геномної інформації на функціональні метаболічні моделі. Метаболічні моделі в масштабі геному (GEMs) дають змогу передбачати фенотипи організмів, такі як накопичення біомаси або синтез метаболітів, використовуючи аналіз балансу потоків, що базується на генетичній інформації. Проте автоматичне створення

таких моделей за допомогою інструментів на кшталт CarveMe, ModelSEED чи gapseq потребує детальної перевірки через неповні або неточні анотації генів, помилки у базах даних і необхідність заповнення прогалів (gap filling), щоб забезпечити узгодженість і коректність створеної моделі. [3].

Для усунення цих обмежень сучасні методи застосовують додаткові рівні інформації: від врахування умов мікрооточення за допомогою даних multi-omics і підтвердження моделей експериментальними результатами (наприклад, дані fluxomics та метаболоміки) до побудови контекстно-залежних моделей (GEM-PRO), що інтегрують структурні характеристики білків. Крім того, значний потенціал мають підходи, які поєднують метаболічні моделі геномного масштабу з методами зворотного моделювання, такими як COVRECON, що дозволяють реконструювати зміни в метаболічних мережах, базуючись на метаболомних даних [4].

У контексті екологічних і біогеохімічних систем моделі на кшталт METABOLIC та COMETS дають змогу описувати метаболічні взаємодії в мікробних спільнотах, а також просторово-часові аспекти цих процесів.

Основними джерелами даних для реконструкції метаболічних мереж є такі бази, як KEGG, BioCyc, MetaCyc, PATRIC та IMG/M, а також стандартизовані програмні інструменти (COBRApy, COBRA Toolbox) [5]. Аналіз балансу потоків, що є провідним методом у сфері моделювання з обмеженнями (constraint-based modeling), дозволяє вивчати розподіл потоків метаболітів за різних умов та визначати оптимальні напрямки експериментальних досліджень. [3,5].

Таким чином, сучасне моделювання метаболічних шляхів прокаріотів інтегрує значні обсяги геномних даних з передовими алгоритмічними підходами, завдяки чому створюються точні, контекстно-залежні та експериментально перевірені моделі. Це забезпечує нові можливості для їх використання в біотехнології та медицині..

II. МЕТА РОБОТИ

Метою даної роботи є аналіз сучасних підходів до моделювання метаболічних шляхів прокаріотичних організмів з урахуванням актуальних методологічних рішень, інструментів та баз даних.

III. МОДЕЛЮВАННЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ШЛЯХІВ

Метаболічні шляхи, або метаболічна мережа, складаються з послідовності ферментативних реакцій, які використовують певні субстрати (наприклад, глюкозу, сахарозу, оцтову кислоту) для прояву конкретного фенотипу (наприклад, росту клітин чи адаптації до стресових умов), при цьому накопичуючи різні продукти (амінокислоти, етанол, молочну кислоту тощо). Опис і кількісний аналіз швидкостей усіх реакцій у метаболічній мережі здійснюється у межах аналізу метаболічного потоку.

Одним із ключових підходів до теоретичного аналізу складних біологічних систем є побудова та дослідження математичних моделей.

У межах біоінформатики метаболізм клітини вивчається в рамках метабономіки, де якісний аналіз здійснюється шляхом побудови метаболічних карт, тоді як кількісний підхід, який можливий лише завдяки сучасним обчислювальним засобам, передбачає моделювання із застосуванням стехіометричних матриць, таблиць кінетичних параметрів ферментів і відповідних систем математичних рівнянь.

Вивчення інформації про життєдіяльність клітини, представленої у структурі та динаміці її метаболізму, є не менш значущим, ніж аналіз генетичної інформації. Цей напрям досліджень, хоча й більш складний і наразі менш розвинений, активно розвивається в біоінформатиці й пов'язаний із теоретичними, комп'ютерними дослідженнями метаболічних систем клітини. Головні завдання цього напрямку включають аналіз структурної організації мереж метаболічних потоків, розкриття принципів їх регуляції та визначення регуляторних інваріантів, що підтримують гомеостаз у метаболічних мережах. [6].

Рівні дослідження метаболічних реакцій

1. *In vitro* – властивості окремих метаболітів і їх динаміка.

2. *In vivo* – опис характеристик метаболізму клітини в цілому.

3. *In silico* – побудова «електронної клітини».

Структура метаболічних моделей

Метою створення метаболічних моделей є узагальнення наявних знань щодо хімічних реакцій у клітині, регуляторних механізмів метаболізму та взаємодії клітини з її оточенням. Такі моделі виступають ключовою платформою для проведення *in silico* аналізу поведінки клітини за різних умов..

У типових випадках модель включає:

Комплексний список метаболічних реакцій.

Правила регуляції реакцій.

Термодинамічні обмеження.

Модель транспорту речовин та обміну з середовищем [7].

Підходи до побудови математичних моделей метаболізму

Основними інструментами теоретичного дослідження метаболізму є математичні моделі, які описують структуру метаболічних мереж і динаміку метаболічних потоків.

1. *Кінетичний підхід, за якого метаболічна система клітини розглядається як сукупність метаболітів із концентраціями, що змінюються з часом.*

2. *Потоковий підхід, за якого метаболічна система трактується як сукупність потоків, що характеризують перетворення метаболітів..*

Кінетичний підхід передбачає побудову системи рівнянь, у якій кожне рівняння описує зміну концентрації певного метаболіту з часом як функцію від концентрації відповідного ферменту та інших метаболітів. У такій системі кількість рівнянь дорівнює кількості невідомих (тобто метаболітів), що в теорії дозволяє отримати однозначне розв'язання, яке відображає динаміку метаболічної системи. Проте через велику кількість метаболітів, які необхідно враховувати при моделюванні метаболізму

всієї клітини (приблизно 500 основних метаболітів), а також суттєву нелінійність відповідних диференціальних рівнянь, розв'язання повної моделі стає надзвичайно складним з точки зору обчислювальних ресурсів. Тому кінетичний підхід здебільшого застосовується для моделювання окремих ділянок метаболічної мережі (модулів), які включають не більше 50-60 компонентів, і не використовується для опису метаболізму клітини в цілому..

У потоковому підході змінними в рівняннях моделі є не концентрації метаболітів, а потоки – тобто швидкості реакцій синтезу або споживання метаболітів. У випадку стаціонарного стану клітини кожне рівняння такої моделі відображає баланс вхідних і вихідних потоків для певного метаболіту. У результаті модель зводиться до системи лінійних алгебраїчних рівнянь, кількість яких відповідає числу метаболітів у метаболічній мережі, а кількість невідомих – числу реакцій (тобто ферментативних перетворень), що в ній відбуваються. Така система рівнянь, яка ґрунтується на принципі збереження маси та стехіометричних співвідношеннях реакцій, формує основу стехіометричної потокової моделі метаболізму. [4].

Методи моделювання метаболічних шляхів

- *аналіз метаболічного потоку (MFA)*
- *^{13}C аналіз метаболічного потоку (^{13}C -MFA)*

- *аналіз балансу потоку (FBA)*
- *аналіз метаболічних шляхів (MPA)*

Згадані вище підходи до моделювання метаболічних шляхів базуються на припущенні про псевдостійкий стан внутрішньоклітинних метаболітів і ґрунтуються на принципі збереження маси. Завдяки цим методам можна аналізувати характеристики метаболічної мережі, зокрема її стійкість, уразливість і реакцію на зміни умов. [7].

Аналіз метаболічного потоку (MFA)

Аналіз метаболічного потоку є експериментальним методом флюксоміки, який дозволяє досліджувати швидкість утворення та споживання метаболітів у біологічних системах. На

внутрішньоклітинному рівні цей підхід забезпечує кількісну оцінку метаболітів, тим самим розкриваючи особливості центрального метаболізму клітини. Використовуючи стехіометричні моделі та мас-спектрометрію з ізотопною міткою, можливо відстежити перенесення ізотопно мічених фрагментів між метаболітами й отримати детальну інформацію про структуру та функціонування метаболічної мережі. MFA має широке коло застосувань, зокрема для оцінки потенціалу біологічної системи до синтезу цільових сполук (наприклад, етанолу) та для моделювання її реакції на генетичні модифікації, включаючи вставку чи видалення генів [8].

^{13}C -аналіз метаболічного потоку (^{13}C -MFA)

^{13}C MFA – Це експериментальний метод для визначення внутрішньоклітинних потоків метаболітів, який ґрунтується на використанні стабільно ізотопно мічених субстратів, зокрема з використанням ^{13}C . Після введення мічених сполук аналізується розподіл ізотопної мітки серед метаболітів. Точне визначення потоків здійснюється шляхом поєднання даних про ізотопне маркування, вимірювань позаклітинних потоків та застосування стехіометричних балансів. Ядерно-магнітно-резонансна спектроскопія (ЯМР) і мас-спектрометрія (МС) є ключовими методами для визначення ступеня ^{13}C -збагачення метаболітів, що надає цінну інформацію про особливості клітинного метаболізму [9].

Аналіз балансу потоку (FBA)

FBA – Це метод математичного моделювання метаболізму, який дозволяє оцінити швидкості реакцій у межах метаболічної мережі як окремого шляху, так і сукупності шляхів. Його використовують для аналізу впливу різних факторів на клітину або для оптимізації умов її росту. Основними перевагами цього підходу є застосування стаціонарного припущення (коли концентрації метаболітів вважаються постійними в часі) та відносно низькі вимоги до обчислювальних ресурсів. [10].

Аналіз метаболічних шляхів (MPA)

Аналіз метаболічних шляхів – це методологічний підхід, що застосовується

для моделювання метаболічних мереж і дозволяє оцінити їх структурні та функціональні характеристики, а також виявити ключові елементи. Серед найбільш перспективних інструментів цього підходу – елементарні поточні режими (EFM) та екстремальні шляхи, які базуються на конвексному аналізі. МРА дає змогу досліджувати функціонально важливі маршрути та гнучкість метаболічної мережі, а також виявляти неефективні цикли та всі можливі (як оптимальні, так і не оптимальні) шляхи, пов'язані з утворенням певного метаболіту. Основні сфери застосування таких методів охоплюють аналіз структури метаболічних мереж, оцінку їх стійкості та ідентифікацію потенційних генів-мішеней у метаболічній інженерії [11].

Методи аналізу метаболічних моделей

Існує широкий спектр методів для аналізу метаболічних моделей. Однією з ключових їхніх характеристик є рівень деталізації моделей, з якими вони застосовуються (див. рисунок 1). Деякі підходи орієнтовані на високодеталізовані моделі, що враховують кінетичні параметри реакцій та базуються на використанні диференціальних рівнянь.

Це дає змогу здійснювати кількісне прогнозування на основі моделі. Інші підходи, навпаки, використовують лише інформацію про зв'язки між реакціями без урахування кінетики. Такі методи дозволяють проводити лише якісні оцінки, проте мають перевагу в здатності працювати з великими за розміром моделями.

Аналіз деталізованих кінетичних моделей є найранішим підходом у дослідженні метаболізму. Завдяки опису на основі диференціальних рівнянь, він дає змогу точно моделювати динаміку системи та визначати її можливі стани, що сприяє глибшому розумінню механізмів регуляції окремих метаболічних шляхів. Однак масштабування таких моделей на великі системи є проблематичним через обмежену доступність достовірних кінетичних параметрів і високу обчислювальну складність аналізу [12].

Для дослідження метаболічних моделей широко використовують метод балансу потоків та його модифікації. Основою цих підходів є припущення про стаціонарний стан, тобто про підтримання стабільного рівня концентрацій речовин. У математичному вигляді це припущення формулюється як:

$$Sv = 0,$$

де v - вектор величин потоків через реакції, а S - матриця стехіометричних коефіцієнтів реакцій, в якій рядки відповідають метаболітам, а стовпці – реакціям.

Методи балансу потоків дають змогу здійснювати чисельне прогнозування, досліджуючи простір можливих метаболічних потоків за різних умов. Вони ефективно застосовуються для мікроорганізмів, таких як бактерії та дріжджі, для яких можна побудувати достатньо точні структурні моделі. Одним із суттєвих обмежень таких методів є залежність від наявності детально опрацьованої моделі, яка включає численні обмеження. За відсутності такої моделі метод не здатен забезпечити інформативні результати.

На сьогоднішній день метаболічні моделі для організмів ссавців менш деталізовані порівняно з бактеріальними, хоча дослідження в цьому напрямі активно тривають. Ще однією важливою проблемою є складність інтеграції метаболомних даних у ці підходи, оскільки лише на основі концентрацій метаболітів у стаціонарному стані важко зробити висновки щодо потоків без знання кінетичних характеристик відповідних реакцій.

На рисунку 1 проказано методи аналізу метаболічних моделей, впорядковані за ступенем деталізації моделей.

Методи топологічного аналізу мереж є менш залежними від ступеня деталізації метаболічних моделей. У найпростішому варіанті вони дозволяють аналізувати взаємозв'язки між елементами мережі — ферментами, реакціями та метаболітами. Такі підходи вже ефективно застосовуються для дослідження метаболічних мереж людини та рослин.

У більш складних випадках ставиться завдання виявлення активних метаболічних модулів — підмереж, у яких гени та метаболіти демонструють узгоджену поведінку згідно з експериментальними

даними. Важливою перевагою цього підходу є здатність не лише ідентифікувати відомі регульовані шляхи, але й виявляти нові метаболічні маршрути та встановлювати зв'язки між ними

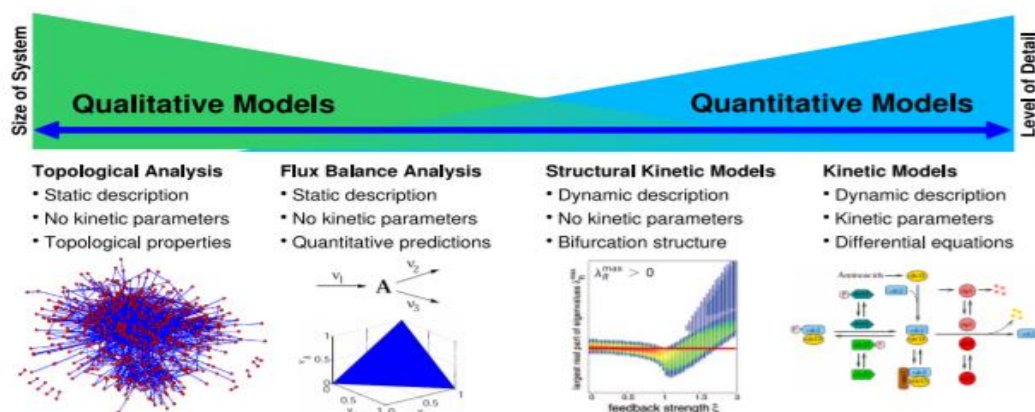


Рисунок 1 – Методи аналізу метаболічних моделей, впорядковані за ступенем деталізації моделей [12].

Ще одним підходом до аналізу метаболічних моделей є аналіз представленості метаболічних шляхів. Його суть полягає у виявленні тих шляхів, у яких гени та/або метаболіти значною мірою присутні серед елементів, що демонструють індивідуально регульовану експресію або концентрацію. Цей підхід легко адаптується для роботи як із транскриптомними, так і з метаболомними даними.

IV. МОДЕЛЮВАННЯ ЗА ДОПОМОГОЮ FBA

У методі аналізу метаболічних потоків метаболічні реакції описуються за допомогою стехіометричної матриці S розміром $m \times n$, де m — кількість метаболітів, а n — кількість реакцій. Кожен рядок матриці відповідає окремому метаболіту, а кожен стовпець — окремій реакції. Значення в матриці відображають стехіометричні коефіцієнти: негативні — для метаболітів, що споживаються, позитивні — для тих, що утворюються, і нуль — для метаболітів, які не беруть участі в даній реакції [13].

Оскільки більшість біохімічних реакцій включає обмежену кількість метаболітів, матриця S здебільшого є розрідженою, тобто містить багато нульових елементів. Потоки реакцій у моделі описуються вектором v довжиною n , а концентрації метаболітів — вектором x довжиною m . Система рівнянь

матеріального балансу в стаціонарному стані ($dx/dt = 0$) в такому випадку виражається формулою:

$$S \times v = 0$$

Будь-який v , яке задовольняє рівняння $S \times v = 0$ звертає в нуль розмірність простору S . Але в реалістичній метаболічній моделі кількість реакцій завжди більше, ніж кількість метаболітів ($n > m$). Іншими словами, у такій системі рівнянь кількість невідомих перевищує кількість рівнянь, що робить її недовизначеною й допускає множину можливих рішень, багато з яких можуть бути біологічно некоректними. Проте цей простір рішень можна звужити, застосовуючи певні критерії. Один із таких критеріїв задається у вигляді цільової функції, що відображає певний аспект функціонування системи — наприклад, продукцію біомаси чи АТФ і визначає рішення, яке максимізує (або мінімізує) це значення. Додаткове звуження простору рішень досягається шляхом накладення індивідуальних обмежень на кожен потік. У результаті можна визначити, яка конфігурація потоків у межах допустимого простору відповідає, наприклад, максимальній швидкості росту або найвищому виходу АТФ у конкретному організмі.

Метою аналізу балансу потоків (FBA) є максимізація або мінімізація цільової

функції $Z = c^T v$, яка являє собою лінійну комбінацію потоків, де c – вектор коефіцієнтів, що визначає внесок кожної реакції в загальну ціль (наприклад, синтез біомаси чи іншого продукту). У випадках, коли оптимізується лише одна реакція, вектор c зазвичай складається з нулів, за винятком одиниці на позиції відповідної реакції.

Оптимальне розв'язання такої задачі досягається шляхом застосування методів лінійного програмування. У цьому контексті FBA визначається як використання лінійного програмування для розв'язання системи рівнянь $S * v = 0$, де S – стехіометрична матриця, а цільова функція є лінійною комбінацією потоків. Результатом аналізу є вектор v , що представляє набір швидкостей реакцій, який забезпечує екстремум (максимум або мінімум) заданої цільової функції.

Основні стадії створення моделі:

1. створення повної метаболічної мережі;

2. накладення обмежень на модель;

3. визначення цільової функції.

Створення метаболічної мережі

Метаболічні мережі можуть охоплювати як окремий метаболічний шлях, так і всю клітину, тканину або навіть цілий організм. Основною вимогою до такої мережі є її цілісність – відсутність незаповнених або невизначених ділянок. Побудова повноцінної метаболічної мережі є надзвичайно трудомістким процесом, який може тривати місяцями або навіть роками..

Накладення обмежень на модель

Важливим елементом FBA є встановлення обмежень на швидкість метаболічних потоків, щоб їх значення залишалися в заданих межах. Це дає змогу точніше моделювати поведінку реальної метаболічної системи. Зазвичай обмеження поділяються на дві основні групи:

- ті, що стосуються поглинання або виділення сполук клітиною,
- та внутрішньоклітинні обмеження на окремі метаболічні реакції.

З математичної точки зору, такі обмеження звужують простір можливих рішень для моделі, роблячи її більш

релевантною до біологічних умов. Вони можуть базуватися як на теоретичних припущеннях, так і на експериментальних даних.

Найбільш очевидними теоретичними обмеженнями є термодинамічні, які визначають можливий напрям перебігу реакції. Якщо зміна вільної енергії реакції (ΔG) є від'ємною, реакція відбувається у прямому напрямку, і навпаки [4,11].

Крім того, швидкості деяких потоків можуть бути визначені експериментально, що дозволяє обмежити значення відповідних реакцій у моделі певним діапазоном, близьким до отриманих даних:

$$v_{i,m} - \varepsilon < v_i < v_{i,m} + \varepsilon$$

Найпростішими для вимірювання є швидкості поглинання та секреції сполук. Як правило, швидкість надходження речовини з навколишнього середовища залежить від її доступності, концентрації, здатності до дифузії (чим вона вища – тим швидше поглинання) та механізму транспорту – активного перенесення, полегшеної чи простої дифузії. Внутрішньоклітинні потоки можна оцінювати за допомогою методів радіоактивного мічення, ядерно-магнітного резонансу та інших спеціалізованих аналітичних підходів.

Цільова функція

Система FBA не має єдиного розв'язку, проте введення обмежень дозволяє суттєво звужити множину допустимих варіантів. Серед них обирається рішення, яке забезпечує максимізацію або мінімізацію заданої цільової функції. Цільова функція представляє собою лінійну комбінацію потоків, що відображає певний характеристичний показник системи. Зазвичай таким показником є продукція біомаси або швидкість клітинної проліферації, а в разі енергетичних шляхів, таких як гліколіз, синтез АТФ.

V. МЕТАБОЛІЧНА РЕКОНСТРУКЦІЯ

Реконструкція та моделювання метаболічної мережі сприяє глибшому розумінню молекулярних процесів, характерних для певного організму. Такі моделі встановлюють зв'язок між геномною інформацією та молекулярною фізіологією.

У процесі реконструкції метаболічні шляхи (наприклад, гліколіз або цикл трикарбонових кислот) розкладаються на окремі реакції та ферменти, які аналізуються в контексті всієї мережі. Інакше кажучи, реконструкція узагальнює всю релевантну метаболічну інформацію про організм і формує на її основі математичну модель [14].

Перевірка та аналіз таких реконструкцій дозволяють виявити ключові характеристики метаболізму – зокрема, продуктивність росту, розподіл метаболічних ресурсів, структурну стійкість мережі й значущість окремих генів. Отримані результати можуть бути використані для розробки новітніх біотехнологічних рішень.

В загалом, процес реконструкції виглядає наступним чином:

1. Проект реконструкції.
2. Уточнення моделі.
3. Перетворення моделі в математичне/обчислювальне уявлення.
4. Оцінка і налагодження моделі шляхом експериментів.

Складання проекту реконструкції

Оскільки розробка метаболічних реконструкцій є відносно новим напрямом, більшість із них досі створюються вручну. Водночас наразі доступна низка інструментів, які дозволяють здійснювати напівавтоматизовану побудову реконструкцій, що значно знижує витрати часу та зусиль. Початкову версію моделі можна автоматично згенерувати за допомогою таких платформ, як PathoLogic або ERGO у поєднанні з базами знань, наприклад MetaCyc, а подальше уточнення й удосконалення проводиться вручну за допомогою інструментів на зразок Pathway Tools.

Ці напівавтоматичні підходи дозволяють швидко сформувати базову структуру моделі, яка згодом може бути точно адаптована на основі нових експериментальних даних. Такий підхід є необхідним для того, щоб галузь метаболічного моделювання могла встигати за стрімким зростанням кількості повністю анотованих геномів.

Інструменти для метаболічного моделювання

Pathway Tools – Це багатофункціональний програмний пакет для біоінформатики, що включає інструменти для керування геномними даними, системної біології та аналізу omics-інформації. Його було ліцензовано понад 11 000 наукових груп, і він слугує основою для ресурсу BioCyc.org та інших веб-платформ, які містять бази даних геномів і метаболічних шляхів [13].

Програмне забезпечення забезпечує наступні варіанти використання:

- Створення організм-специфічних баз даних, що інтегрують різноманітні біоінформаційні дані – від геномної інформації до регуляторних, метаболічних і сигнальних шляхів.
- Здійснення обчислюваних прогнозів, зокрема реконструкція метаболізму та передбачення оперонної структури.
- Візуалізація наукових даних і розповсюдження баз даних, прив'язаних до конкретних організмів, через публічні або приватні веб-ресурси.
- Проведення аналізу даних експресії генів та метаболоміки.
- Побудова кількісних моделей метаболічних процесів.
- Порівняльний аналіз геномів та метаболічних шляхів.
- Дослідження та моделювання біологічних мереж.

ERGO – це передплатна платформа, яка надає інструменти системної біоінформатики, побудовані на основі порівняльної геноміки для збору, аналізу та візуалізації секвованих геномів. Завдяки унікальним алгоритмам Igenbio і великій інтегрованій базі даних геномів, збагаченій найбільшою колекцією мікробних метаболічних і неметаболічних шляхів, *ERGO*TM автоматично призначає функції генам, інтегрує їх у метаболічні шляхи та допомагає ідентифікувати невідомі або неправильно анотовані гени, приховані шляхи та гени продуктів [3, 14].

KEGGtranslator – автономний програмний інструмент, що дозволяє візуалізувати та конвертувати KEGG-файли

(формату KGML – XML-документи) у широкий спектр форматів виводу. На відміну від багатьох інших подібних програм, KEGGtranslator підтримує численні формати експорту (SBML, BioPAX, SIF, SBGN, GML, GraphML, LaTeX, JPG, GIF тощо), доповнює інформацію, відсутню в KGML, і автоматично виправляє неповні реакції для забезпечення коректного моделювання біохімічних шляхів.

ModelSEED – це веб-платформа, призначена для аналізу, порівняння, реконструкції та редагування метаболічних моделей на рівні геному. Користувачі можуть завантажувати геномні послідовності через систему анотації RAST, після чого анотовані дані автоматично передаються до ModelSEED для побудови чернетки метаболічної моделі. Система генерує мережу метаболічних реакцій, встановлює зв'язки між генами, білками й реакціями, формує реакцію біомасного складу для кожного геному та створює модель мікробного метаболізму, яку можна аналізувати методом балансу потоків.

MetaMerge – це напівавтоматизований алгоритм, призначений для об'єднання двох наявних реконструкцій метаболічних мереж в єдину узгоджену модель. MetaMerge спеціалізується на інтеграції біоінформаційних каталогів, зокрема шляхом використання інструментів метадиректорій, і відіграє важливу роль у забезпеченні цілісності даних, зокрема в рамках продуктів IBM.

CoReCo – алгоритм для автоматизованої реконструкції метаболічних моделей споріднених організмів. У першій версії програмного забезпечення в якості джерела реакцій використовувалась база KEGG, що поєднувалась із прогнозами ензиматичних функцій за номерами EC, згенерованими CoReCo. Завдяки автоматичному заповненню прогалів з використанням атомних карт реакцій, алгоритм створює функціональні моделі, які готові до подальшого комп'ютерного моделювання.

Методика складання проекту реконструкції

Реконструкція метаболічної мережі здійснюється шляхом узагальнення та інтеграції даних із різних біоінформаційних ресурсів. Бази даних, такі як KEGG та BioCyc, можуть використовуватись разом для ідентифікації всіх метаболічних генів в організмі. Виявлені гени зіставляються з гомологами з близькоспоріднених організмів, для яких уже створено реконструкції. На основі цієї порівняльної інформації запозичуються гомологічні реакції та білки для формування попередньої версії метаболічної моделі. Інструменти, такі як ERGO, Pathway Tools та ModelSEED, дозволяють об'єднувати дані, створюючи мережі метаболічних і неметаболічних шляхів, які згодом проходять етапи перевірки та уточнення перед перетворенням у математичну модель [15].

Прогностична складова метаболічної реконструкції ґрунтується на здатності передбачати біохімічні реакції, каталітичну активність яких можна вивести з амінокислотної послідовності відповідного білка. На основі передбачених реакцій формуються структурні моделі метаболічної мережі. Для цього будується мережа взаємозв'язків між ферментами та метаболітами, що дозволяє поєднувати послідовності з функціями. Якщо в геномі виявлено білок із невизначеною функцією, його амінокислотна послідовність порівнюється з уже відомими білками. У разі виявлення гомології передбачається, що білки мають спільного предка, а отже – подібну функцію. Проте ефективність реконструкції залежить від здатності моделі точно передбачати фенотип на основі послідовності, тому лише приблизного функціонального прогнозу недостатньо.

На рисунку 2 схематично зображено етапи реконструкції метаболічної мережі. Для підвищення точності функціональних анотацій білків на основі гомології було розроблено низку біоінформаційних інструментів, зокрема *InParanoid*, який дозволяє виявляти ортологи в еукаріотичних організмах, фокусуючись на так званих *in-paralogs*

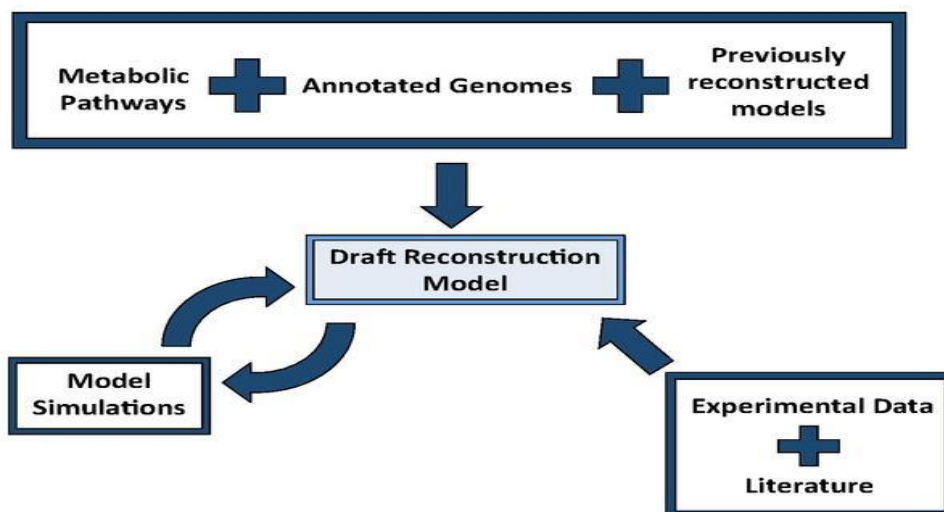


Рисунок 2 – Процес реконструкції метаболічної мережі

CDD – ресурс для функціональної анотації білків, який використовує колекцію доменних моделей, побудованих із урахуванням тривимірної структури, що дозволяє краще зрозуміти зв'язок між амінокислотною послідовністю, структурою та функцією білка.

InterPro – платформа для функціонального аналізу білкових послідовностей, яка класифікує білки, прогнозує наявність доменів та функціонально важливих сайтів.

STRING – база даних, що містить інформацію про відомі та прогнозовані білкові взаємодії.

Після ідентифікації білків додаткову інформацію щодо структур ферментів, каталізованих реакцій, відповідних субстратів, продуктів і механізмів можна отримати з ресурсів на кшталт *KEGG*, *MetaCyc* або *NC-IUBMB*.

Для побудови високоточних метаболічних моделей важливо враховувати зворотність реакцій і найімовірніший фізіологічний напрям їх перебігу. Такі дані можна отримати з баз *BRENDA* або *MetaCyc*.

Уточнення моделі

Початкова реконструкція метаболічної мережі на основі геному часто є неповною та неточною через високу різноманітність і

мінливість мікроорганізмів. Часто в базах даних метаболічних шляхів, таких як *KEGG* чи *MetaCyc*, наявні так звані «прогалини»: у таких випадках спостерігається перетворення субстрату на продукт (тобто наявна ферментативна активність), але в геномі відсутній відомий ген, що кодує відповідний фермент. Крім того, в напівавтоматичних реконструкціях можуть бути присутні неправильно передбачені шляхи, які насправді не функціонують у зазначений спосіб.

У зв'язку з цим проводиться ретельна систематична перевірка, щоб виявити і усунути невідповідності, а також підтвердити коректність і точність усіх внесених елементів. Для підвищення достовірності моделі також доцільно звертатися до наукової літератури, щоб підтвердити дані з різноманітних баз метаболічних реакцій і геномів. Такий підхід гарантує, що конкретний фермент і пов'язана з ним реакція дійсно мають місце в досліджуваному організмі [16].

Важливо враховувати, що пошкодження метаболітів унаслідок неферментативних або спонтанних хімічних реакцій може порушити нормальне функціонування метаболічної мережі. Процеси відновлення пошкоджених сполук

або запобігання їх руйнуванню супроводжуються енергетичними витратами, які слід враховувати в моделі. Ймовірно, багато генів з невідомими функціями кодують білки, залучені до таких захисних механізмів, проте більшість моделей у масштабі геному охоплюють лише частину всіх генів.

Кожна нова реакція, відсутня у стандартних базах даних, повинна бути вручну додана до реконструкції. Цей процес є ітеративним і передбачає постійний обмін між експериментальною перевіркою та етапом модифікації моделі. У міру надходження нової інформації модель оновлюється для точнішого передбачення метаболічного профілю та фенотипу клітини.

Наявність або відсутність окремих реакцій у мережі безпосередньо впливає на склад реагентів і продуктів, доступних для інших реакцій, оскільки продукти однієї реакції можуть слугувати субстратами для наступних. Таким чином, взаємозв'язок між реакціями формує складну, взаємозалежну мережу метаболічних перетворень.

Наприклад, під час реконструкції метаболічної мережі *Lactobacillus plantarum* модель припустила, що сукциніл-КоА є реагентом у реакції біосинтезу метіоніну. Проте знання про фізіологію цього виду свідчить, що внаслідок неповного циклу трикарбонових кислот *L. plantarum* фактично не синтезує сукциніл-КоА. Натомість правильним реагентом у цій реакції є ацетил-КоА [5,6].

Таким чином, детальна перевірка початкової реконструкції дозволяє виявити критичні неточності, які можуть істотно вплинути на подальше трактування даних. Крім того, етап моделювання забезпечує правильне стехіометричне збалансування всіх реакцій у мережі. Отже, тільки високоточна реконструкція дозволяє глибше зрозуміти молекулярні механізми функціонування організму та відкриває нові перспективи для біотехнологічних застосувань.

Моделювання метаболічної мережі

Метаболічна мережа може бути подана у вигляді стехіометричної матриці, де кожен рядок представляє метаболіт, залучений у реакціях, а кожен стовпець відповідає окремій реакції. Стехіометрія у цьому контексті описує кількісні співвідношення між реагентами та продуктами хімічних перетворень.

Застосування реконструкції

Між базами даних, що містять інформацію про гени, ферменти, біохімічні реакції, та опублікованими науковими джерелами часто спостерігаються невідповідності щодо метаболічних характеристик організмів. Для їх усунення застосовують такі підходи:

- Реконструкція – систематичний процес перевірки, інтеграції та уточнення даних із різних джерел з урахуванням усіх виявлених розбіжностей.
- Об'єднання метаболічної та геномної інформації для створення цілісного уявлення про організм; метаболічне порівняння може здійснюватися як між штамми одного виду, так і між різними організмами.
- Аналіз синтетичної летальності для виявлення критичних генетичних взаємозв'язків.
- Прогнозування наслідків адаптивної еволюції, що дозволяє моделювати поведінку системи в нових умовах.
- Застосування в метаболічній інженерії для отримання високопродуктивних штамів або синтезу цінних сполук.

Моделі, отримані внаслідок реконструкції метаболічної мережі, дають змогу формулювати гіпотези щодо присутності певних ферментативних активностей або утворення специфічних метаболітів, які потім можуть бути підтверджені експериментально. Таким чином, реконструкції доповнюють традиційну мікробіологічну біохімію, орієнтовану на відкриття, дослідженнями, побудованими на гіпотезах. Результати таких перевірок можуть виявити нові метаболічні шляхи, пояснити раніше неузгоджені експериментальні дані та

розширити наше розуміння метаболічної активності.

Інформація про хімічні реакції метаболізму та генетичне підґрунтя різних метаболічних властивостей (від послідовності до функції) є цінним ресурсом для генної інженерії. Вона може використовуватися для створення модифікованих організмів, здатних синтезувати цінні речовини – фармацевтичні препарати, хімічні проміжні продукти (наприклад, терпеноїди, ізопреноїди) або біотехнологічні продукти, зокрема біопаливо [17].

Реконструкції метаболічних мереж також застосовують для дослідження функціонування організмів або паразитів у межах клітини-господаря. Наприклад, якщо паразит руйнує імунні клітини, як-от макрофаги, метаболічна модель може допомогти визначити, які метаболіти необхідні йому для розмноження всередині цих клітин. Припинення синтезу ключових метаболітів може перешкодити паразиту уникати імунної відповіді. У цьому контексті реконструкція є початковим етапом у розкритті молекулярних механізмів хвороби. Такі моделі також дозволяють визначити мінімальний набір генів, необхідних клітині для підтримки вірулентності.

Подальший етап передбачає використання прогнозів, отриманих із моделі, для відкриття нових біологічних функцій – зокрема, для ідентифікації мішеней у розробці лікарських засобів та оптимізації методів їх доставки.

ВИСНОВКИ

Бази даних метаболічних шляхів містять структуровану інформацію про біохімічні реакції та метаболіти для різних організмів. Метаболічна реконструкція формує математично описану модель, що дозволяє досліджувати системну біологію організму, зокрема поведінку метаболічної мережі за різних умов.

Ключовим елементом аналізу є метаболічний шлях – послідовність реакцій, пов'язаних спільною функцією. Інтерпретація даних часто зводиться до виявлення активних або регульованих

шляхів та їх взаємозв'язків. Метаболічні моделі включають інформацію про реакції, гени-регулятори та відповідність стандартним біохімічним маршрутам.

Для оцінки розподілу метаболітів застосовується стехіометричне моделювання, зокрема аналіз балансу потоків, який базується на припущенні стаціонарності – рівності швидкості утворення та витрат кожного метаболіту. Це призводить до системи лінійних рівнянь з багатьма можливими рішеннями, з яких за допомогою лінійного програмування обирається оптимальне – залежно від заданої цільової функції, що моделює мету клітинної активності.

Фінансування. Дане дослідження не отримувало зовнішнього фінансування.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ORCID ID та внесок авторів

(B, C) Diana Ponomarenko

0000-0002-2087-6953 (B, C, D) Alexander Besarab

0000-0003-1507-1445 (A, C) Olena Bespalova

0000-0002-5309-6099 (A, D, E) Alexander Galkin

A – концепція роботи та дизайн; B – аналіз інформації; C – написання статті; D – критичний огляд; E – остаточне схвалення статті.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Gelbach P.E., Cetin H., Finley S.D. Flux sampling in genome scale metabolic modeling of microbial communities // *BMC Bioinformatics*. – 2024. – Vol. 25, Article № 45. – P. 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12859-024-05655-3>.
2. van der Heijden R.T.J.M., Basler G., Holzhütter H.-G., Planqué R. Emerging methods for genome scale metabolic modeling of microbial communities // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2024. – Vol. 35, № 6. – P. 533–548. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2024.02.018>.
3. Zimmermann J., Kaleta C., Waschina S. gapseq: informed prediction of bacterial metabolic pathways and reconstruction of accurate metabolic models // *Genome Biology*. – 2021. – Vol. 22, Article № 81. – P. 1–18. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02295-1>.
4. Li J., Waldherr S., Weckwerth W. COVRECON: Combining genome-scale metabolic network reconstruction and data-driven inverse modeling to reveal changes in metabolic interaction networks [Електронний ресурс] // *arXiv*. – 2023. – arXiv:2303.12526. – Режим доступу: <https://arxiv.org/abs/2303.12526>.
5. Zhou Z., Tran P.Q., Breister A.M., Liu Y., Kieft K., Cowley E.S., Karaoz U., Anantharaman K. METABOLIC: high-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry, and community-scale functional networks // *Microbiome*. – 2022. – Vol. 10, Article № 33. – P. 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01213-8>.

6. Горобець С. В., Горобець О. Ю., Булаєвська М. О. Біоінформатичні бази даних [Електронний ресурс] / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, М. О. Булаєвська. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2020. – 1 електрон. опт. диск (PDF). – Режим доступу: https://ela.kpi.ua/bitstream/123456789/36457/1/Bioinformatyc_hni_BD.pdf
7. Vezina B., Watts S. C., Hawkey J., Cooper H. B., Judd L. M., Jenney A. W. J., Monk J. M., Holt K. E., Wyres K. L. Bactabolize is a tool for high-throughput generation of bacterial strain-specific metabolic models / B. Vezina, S. C. Watts, J. Hawkey, H. B. Cooper, L. M. Judd, A. W. J. Jenney, J. M. Monk, K. E. Holt, K. L. Wyres // BMC Bioinformatics. – 2023. – Vol. 12, Oct 10. – Article RP87406. – DOI: 10.7554/eLife.87406. – Режим доступу: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10564454/?utm_source=chatgpt.com.
8. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. Metabolic Flux Analysis [Електронний ресурс] / М. Rajvanshi, К. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступу: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_698.
9. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. 13C Metabolic Flux Analysis [Електронний ресурс] / М. Rajvanshi, К. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступу: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_699.
10. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. Flux Balance Analysis [Електронний ресурс] / М. Rajvanshi, К. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступу: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_1085.
11. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. Metabolic Pathway Analysis [Електронний ресурс] / М. Rajvanshi, К. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступу: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_1083.
12. De Bernardini N., Zampieri G., Campanaro S., Zimmermann J., Waschina S., Treu L. pan-Draft: automated reconstruction of species-representative metabolic models from multiple genomes / N. De Bernardini, G. Zampieri, S. Campanaro, J. Zimmermann, S. Waschina, L. Treu // Genome Biology. – 2024. – Vol. 25, Article 280. – DOI: 10.1186/s13059-024-03425-1. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1186/s13059-024-03425-1>
13. Cortese N., Procopio A., Merola A., Zaffino P., Cosentino C. Applications of genome-scale metabolic models to the study of human diseases: A systematic review / N. Cortese, A. Procopio, A. Merola, P. Zaffino, C. Cosentino // Computer Methods and Programs in Biomedicine. – 2024. – Vol. 256, November. – Article 108397. – DOI: 10.1016/j.cmpb.2024.108397. – Режим доступу: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169260724003900?utm_source=chatgpt.com.
14. CerK K., Ugalde-Salas P., Ghassemi Nedjad C., Lecomte M., Muller C., Sherman D. J., Hildebrand F., Labarthe S., Frioux C. Community-scale models of microbiomes: Articulating metabolic modelling and metagenome sequencing / K. CerK, P. Ugalde-Salas, C. Ghassemi Nedjad, M. Lecomte, C. Muller, D. J. Sherman, F. Hildebrand, S. Labarthe, C. Frioux // Microbial Biotechnology. – 2024. – DOI: 10.1111/1751-7915.14396. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14396>
15. Zhang X., et al. Current State, Challenges, and Opportunities in Genome-Scale Resource Allocation Models... / X. Zhang та ін. // Metabolites. – 2024. – Vol. 14, № 7. – Article 365. – DOI: 10.3390/metabolites14070365. – Режим доступу: <https://www.mdpi.com/2218-1989/14/7/365>.
16. Pettersen J. P., et al. Genome scale metabolic models reveal determinants of phenotypic differences in non Saccharomyces yeasts / J. P. Pettersen та ін. // BMC Bioinformatics. – 2023. – Vol. 24. – Article 438. – DOI: 10.1186/s12859-023-05506-7. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05506-7>.
17. Towards applications of genome scale metabolic model based approaches in designing synthetic microbial communities / [Автор(и)] // Quantitative Biology. – 2023. – DOI: 10.15302/QB0220313. – Режим доступу: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com>
- ## REFERENCES
1. Gelbach P.E., Cetin H., Finley S.D. Flux sampling in genome scale metabolic modeling of microbial communities // *BMC Bioinformatics*. – 2024. – Vol. 25, Article № 45. – P. 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12859-024-05655-3>.
2. van der Heijden R.T.J.M., Basler G., Holzhütter H.-G., Planqué R. Emerging methods for genome scale metabolic modeling of microbial communities // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2024. – Vol. 35, № 6. – P. 533–548. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2024.02.018>.
3. Zimmermann J., Kaleta C., Waschina S. gapseq: informed prediction of bacterial metabolic pathways and reconstruction of accurate metabolic models // *Genome Biology*. – 2021. – Vol. 22, Article № 81. – P. 1–18. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02295-1>.
4. Li J., Waldherr S., Weckwerth W. COVRECON: Combining genome-scale metabolic network reconstruction and data-driven inverse modeling to reveal changes in metabolic interaction networks [Електронний ресурс] // *arXiv*. – 2023. – arXiv:2303.12526. – Режим доступу: <https://arxiv.org/abs/2303.12526>.
5. Zhou Z., Tran P.Q., Breister A.M., Liu Y., Kieft K., Cowley E.S., Karaöz U., Anantharaman K. METABOLIC: high-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry, and community-scale functional networks // *Microbiome*. – 2022. – Vol. 10, Article № 33. – P. 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01213-8>.
6. Горобець С. В., Горобець О. Ю., Булаєвська М. О. Біоінформатичні бази даних [Електронний ресурс] / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, М. О. Булаєвська. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2020. – 1 електрон. опт. диск (PDF). – Режим доступу: https://ela.kpi.ua/bitstream/123456789/36457/1/Bioinformatyc_hni_BD.pdf
7. Vezina B., Watts S. C., Hawkey J., Cooper H. B., Judd L. M., Jenney A. W. J., Monk J. M., Holt K. E., Wyres K. L. Bactabolize is a tool for high-throughput generation of bacterial strain-specific metabolic models / B. Vezina, S. C. Watts, J. Hawkey, H. B. Cooper, L. M. Judd, A. W. J. Jenney, J. M. Monk, K. E. Holt, K. L. Wyres // BMC Bioinformatics. – 2023. – Vol. 12, Oct 10. – Article RP87406. – DOI: 10.7554/eLife.87406. – Режим доступу: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10564454/?utm_source=chatgpt.com.
8. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. Metabolic Flux Analysis [Електронний ресурс] / М. Rajvanshi, К. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступу: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_698.
9. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. 13C Metabolic Flux Analysis [Електронний ресурс] / М. Rajvanshi, К. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступу:

https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_699.

10. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. Flux Balance Analysis [Электронный ресурс] / M. Rajvanshi, K. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступа: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_1085.

11. Rajvanshi M., Venkatesh K. V. Metabolic Pathway Analysis [Электронный ресурс] / M. Rajvanshi, K. V. Venkatesh // Encyclopedia of Systems Biology. – Режим доступа: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4419-9863-7_1083.

12. De Bernardini N., Zampieri G., Campanaro S., Zimmermann J., Waschina S., Treu L. pan-Draft: automated reconstruction of species-representative metabolic models from multiple genomes / N. De Bernardini, G. Zampieri, S. Campanaro, J. Zimmermann, S. Waschina, L. Treu // Genome Biology. – 2024. – Vol. 25, Article 280. – DOI: 10.1186/s13059-024-03425-1. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s13059-024-03425-1>

13. Cortese N., Procopio A., Merola A., Zaffino P., Cosentino C. Applications of genome-scale metabolic models to the study of human diseases: A systematic review / N. Cortese, A. Procopio, A. Merola, P. Zaffino, C. Cosentino // Computer Methods and Programs in Biomedicine. – 2024. – Vol. 256, November. – Article 108397. – DOI: 10.1016/j.cmpb.2024.108397. – Режим доступа:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169260724003900?utm_source=chatgpt.com.

14. Cerk K., Ugalde-Salas P., Ghassemi Nedjad C., Lecomte M., Muller C., Sherman D. J., Hildebrand F., Labarthe S., Frioux C. Community-scale models of microbiomes: Articulating metabolic modelling and metagenome sequencing / K. Cerk, P. Ugalde-Salas, C. Ghassemi Nedjad, M. Lecomte, C. Muller, D. J. Sherman, F. Hildebrand, S. Labarthe, C. Frioux // Microbial Biotechnology. – 2024. – DOI: 10.1111/1751-7915.14396. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14396>

15. Zhang X., et al. Current State, Challenges, and Opportunities in Genome-Scale Resource Allocation Models... / X. Zhang та ін. // Metabolites. – 2024. – Vol. 14, № 7. – Article 365. – DOI: 10.3390/metabolites14070365. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2218-1989/14/7/365>.

16. Pettersen J. P., et al. Genome scale metabolic models reveal determinants of phenotypic differences in non Saccharomyces yeasts / J. P. Pettersen та ін. // BMC Bioinformatics. – 2023. – Vol. 24. – Article 438. – DOI: 10.1186/s12859-023-05506-7. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05506-7>.

17. Towards applications of genome scale metabolic model based approaches in designing synthetic microbial communities / [Автор(и)] // Quantitative Biology. – 2023. – DOI: 10.15302/JQB0220313. – Режим доступа: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com>

UDC 575.112

MODERN APPROACHES TO MODELING METABOLIC PATHWAYS OF PROKARYOTIC ORGANISMS

Diana Ponomarenko

ponomarenko-fbmi@lil.kpi.ua

Alexander Besarab

besarab@lil.kpi.ua

Olena Bespalova

bespalova.olen@lil.kpi.ua

Alexander Galkin

a.galkin@lil.kpi.ua

National Technical University of Ukraine
“Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”

Abstract – Genome-scale modeling is a powerful tool for studying metabolic interactions in microbial communities and developing effective strategies for their optimization. Flux balance analysis (FBA) is widely used to predict the distribution of metabolic fluxes across all reactions in a model. However, FBA results depend on the user-defined cellular target, which may limit the accuracy of predictions under certain conditions.

The use of FBA in combination with genetic engineering methods allows for targeted modification of the genotype of cells, contributing to the redistribution of metabolic fluxes and increasing the yield of target metabolites. This opens up wide opportunities for biotechnological applications, in particular in the production of biologics and synthetic biological systems.

In recent years, significant progress in sequencing has allowed the creation of genetic maps of many prokaryotic organisms. Modern approaches to modeling combine deep genomic data with innovative algorithms that provide the construction of accurate, context-dependent and experimentally verified models. Such models are of great importance for the development of medicine and biotechnology, as they allow not only to optimize microbial communities, but also to promote the development of personalized therapies and new treatment methods. The issue of analyzing modern approaches to modeling metabolic pathways of prokaryotic organisms, taking into account current methodological solutions, tools and databases, remains relevant.

Keywords: bioinformatics, modeling, biosynthesis, biologically active substances, metabolic reconstruction, prokaryotes.