

На правах рукописи



ПАЛЬЯНОВ Андрей Юрьевич

**Методы и алгоритмы для решения ряда актуальных задач
в области вычислительной нейробиологии, биомеханики и
молекулярной биологии**

Специальность 05.13.18 –
математическое моделирование, численные методы
и комплексы программ

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора физико-математических наук

Новосибирск - 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте систем информатики им. А.П. Ершова Сибирского отделения Российской академии наук (ИСИ СО РАН), г. Новосибирск.

Научный консультант: **Марчук Александр Гурьевич**
доктор физико-математических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Борисюк Роман Матвеевич**
доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник, Институт математических проблем биологии Российской академии наук – филиал Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша Российской академии наук», г. Пущино, Лаборатория нейронных сетей.

Чухахин Александр Павлович
доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт гидродинамики им. М. А. Лаврентьева Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Лаборатория дифференциальных уравнений.

Ефимов Вадим Михайлович
доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Лаборатория молекулярно-генетических систем.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт математики им. С. Л. Соболева Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

Защита состоится 8 октября 2019 г. в 15:00 на заседании диссертационного совета Д 003.061.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИВМиМГ СО РАН) по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ИВМиМГ СО РАН <http://icmmg.nsc.ru>.

Автореферат разослан 3 июля 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 003.061.02,
д.ф.-м.н.



Сорокин Сергей Борисович

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Проблема создания сложной многоуровневой компьютерной модели живого организма, включающей его нервную систему, рассматривается как новое перспективное направление на стыке нейробиологии, биофизики, кибернетики, информатики и вычислительных технологий. Начиная с работы [White et al., 1986], в которой была определена структура нервной системы беспозвоночного *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*, произносится как «си элеганс»), насчитывающей всего 302 нервных клетки, задача создания виртуального организма на его основе рассматривается как необходимый первый шаг на пути к более сложным нервным системам. Попытки её решения отдельными небольшими коллективами предпринимались, начиная с работы [Suzuki et al., 2005] и в итоге привели к осознанию того, что проблема слишком сложна и масштабна, чтобы решить её за разумное время усилиями коллектива одной лаборатории. В связи с этим актуальным представляется комплексный подход на основе программной платформы с модульной архитектурой и открытым исходным кодом, который предоставит исследователям возможность как использовать или модифицировать уже имеющиеся в системе модели, так и встраивать в неё новые. Помимо моделей тела организма и его отдельных клеток может понадобиться также рассмотрение ионных каналов и белков, которые играют важную роль во множестве различных внутри- и внеклеточных процессов. В связи с этим в работе рассматриваются вопросы, связанные как с компьютерным моделированием биомеханики движения *C. elegans* и активности его нервной, мышечной и сенсорной систем, так и с развитием вычислительных методов анализа процессов формирования структуры белков, которые впоследствии могут быть применены к проблеме изучения и моделирования структурных перестроек ионных каналов клетки в процессе их функционирования.

Цель работы заключалась в создании методов, алгоритмов и эффективной программной платформы для осуществления компьютерной симуляции как внутреннего строения организма *C. elegans*, так и его движения в виртуальной трехмерной среде с действующими физическими законами. Рассматриваемые при моделировании уровни структурной организации организма - от мышечных и нервных клеток до ионных каналов и токов.

Основные задачи исследований:

- Анализ имеющихся данных о структуре и функциях систем организма *C. elegans*, связанных с его нервной деятельностью и двигательной активностью, а также о физических свойствах его среды обитания.
- Проектирование и реализация модульной программной системы, включающей компоненты для моделирования тела, мышечной системы, среды обитания и нервной системы, а также 3D визуализацию.

- Реализация поддержки высокопроизводительных параллельных вычислений на многоядерных процессорах и графических картах на основе технологии OpenCL. Оптимизация производительности.
- Развитие нового перспективного «гидродинамического» подхода к анализу процесса формирования белковой структуры, в том числе для расчета одномерного профиля свободной энергии вдоль координаты реакции.
- Сравнение результатов моделирования с известными экспериментальными данными, настройка физических и электрофизиологических параметров.

Фактический материал и методы исследований

Для решения поставленной проблемы значительное внимание было уделено изучению имеющихся данных об объекте исследования, включая следующие основные категории:

- Морфологические, физические и биологические характеристики организма *C. elegans*, а также управляющих его движением мышечных клеток, которых насчитывается 95 штук;
- Электрофизиологические и геометрические характеристики нервных и мышечных клеток;
- Связи между нервными клетками, которых насчитывается около 7 тысяч, а также между моторными нервными клетками и мышцами (около 2 тысяч);
- Типы этих связей, их параметры, нейромедиаторы, ионные токи и каналы;
- Биомеханика движения в различных средах, главным образом плавания в толще жидкости и ползания по поверхности геля (агара), включая поступательное движение, повороты и реверс, а также переходы между средами.

На стадии проектирования и реализации программной платформы для создания виртуального *C. elegans* и её отдельных модулей использовались следующие алгоритмы, языки программирования и технологии:

- C++ – для написания основного программного кода;
- OpenCL – для поддержки высокопроизводительных параллельных вычислений на многоядерных процессорах и графических картах;
- OpenGL – для 3D-визуализации;
- NEURON – для моделирования динамики активности сетей биологических нейронов, а также электрической активности мышечных клеток;
- NMODL – для разработки моделей ионных каналов, встраиваемых в мембраны моделей нервных клеток, созданные в системе NEURON;
- Python – для интерфейса обмена данными между телом и нервной системой;
- Собственная параллельная реализация алгоритма PCISPH - модификации метода гидродинамики сглаженных частиц для моделирования несжимаемой жидкости с помощью схемы «предиктор-корректор» [Solenthaler et al., 2009];

- Алгоритмы и структуры данных для моделирования водонепроницаемых эластичных пленок и сокращающихся под действием нервного импульса мышечных волокон;
- В качестве системы контроля версий и репозитория исходных кодов программ использовалась система github (github.com/openworm/sibernetic).

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработанный алгоритм генерации трехмерной модели тела и мышечной системы *C. elegans* с использованием реальных анатомических данных благодаря изменяемому разрешению обеспечивает возможность компромисса между скоростью вычислений и точностью расчетов при симуляции движения.
2. Созданный в результате работы симулятор Sibernetic, основанный на алгоритме PCISPH (Predictor-Corrector Incompressible Smoothed Particle Hydrodynamics) и дополненный новыми типами данных, открывает возможности решения широкого спектра задач моделирования в области гидродинамики, механики сплошных сред, биомеханики беспозвоночных и других биологических объектов и систем.
3. Симуляция движения модели тела *C. elegans* в Sibernetic демонстрирует возможность воспроизведения всех его основных типов, наблюдаемых у реального организма, включая количественные характеристики в различных режимах.
4. Созданные в программной среде NEURON модели электрической активности определенных типов нервных и мышечных клеток *C. elegans* с учетом их морфологии, электрофизиологических параметров, ионных каналов и токов, обеспечивают воспроизведение наиболее важных свойств моделируемых объектов и представляют собой основу для дальнейшего расширения числа включенных в симуляцию нейронов с учетом их индивидуальных параметров.
5. Использование нового «гидродинамического» подхода к анализу процесса формирования белковой структуры позволяет получить более детальную картину и выявить скрытые процессы, не видимые в рамках стандартного анализа на основе рассмотрения поверхности свободной энергии (ПСЭ), в частности, наличие барьера свободной энергии даже при его полном отсутствии на ландшафте ПСЭ белка.

Научная новизна работы определяется следующими результатами, полученными впервые на момент их публикации:

1. Разработан алгоритм генерации 3D модели тела *C. elegans* и его мышечной системы, построенной по анатомическим данным с высоким разрешением.
2. Реализован алгоритм PCISPH с открытым исходным кодом и поддержкой высокопроизводительных параллельных вычислений на многоядерных CPU и GPU на основе технологии OpenCL.

3. Спроектирована и реализована уникальная среда моделирования Sibernetiс, ориентированная на задачи в области биомеханики движения беспозвоночных в физическом окружении, которое может содержать жидкость, гель, эластичные объекты и статичные твердые тела, а также различные пространственные конфигурации на их основе.
4. Выполнено моделирование движения *C. elegans* в явном физическом окружении - плавания в объеме жидкости и ползания по поверхности геля с формированием бороздки, оставляемой телом, от краев которой организм отталкивается для поступательного движения вперед или назад, а также перехода между этими типами движения.
5. Разработан алгоритм распознавания формы тела и извлечения данных об активности мышечных клеток из видеозаписи свободнодвижущегося *C. elegans* (использована видеозапись, полученная в работе [Lefebvre et al., 2016]) и использование полученных данных об активности мышечных клеток для управления моделью тела *C. elegans*.
6. Произведена симуляция движения виртуального *C. elegans* под действием последовательности управляющих мышцами сигналов, извлеченных из видеозаписи движения реального организма. Проведено сравнение полученных в обоих случаях траекторий движения для валидации модели на уровне взаимодействия тела и мышечной системы с внешней средой, исключив на данном этапе взаимное влияние нервной и мышечной систем.
7. Выполнен анализ современных экспериментальных данных об электрофизиологии, механизмах генерации и распространения сигналов в нервных и мышечных клетках *C. elegans* и на их основе разработаны модели в системе NEURON.
8. Произведено выравнивание профилей толщины трубок тока и свободной энергии по положению области переходных состояний в рамках нового «гидродинамического» подхода на примере формирования структуры белка убиквитина. Результаты свидетельствуют о наличии барьера свободной энергии - при его полном отсутствии на ландшафте поверхности свободной энергии белка в рамках стандартного анализа.

Практическое значение работы. Созданный в результате работы над диссертацией программный инструментарий, включая исходные коды и модели, находится в свободном доступе в репозитории github.com/openworm/sibernetiс в соответствии с парадигмой «Открытая наука»/«Open Science». Разработанная автором программная система Sibernetiс [Palyanov et al., 2016; Palyanov et al., 2018] входит в состав некоммерческого международного проекта OpenWorm (www.openworm.org) [Gleeson et al., 2015; Sarma et al., 2018], целью которого является биологически достоверное моделирование систем *C. elegans* и создание

на его основе первого в мире виртуального организма. *Sibernetic* способен взаимодействовать с другими программами – реализован интерфейс обмена данными с симуляторами нейронной активности *OpenWorm.c302* и *NEURON*(www.neuron.yale.edu) [Vella, Palyanov et al., 2013; Khayrulin, Serdtseva, Palyanov, 2016] и с системой онлайн визуализации результатов моделирования www.geppetto.org. Открытый исходный код, поддержка основных операционных систем (Windows/Linux/MacOS) и высокопроизводительных вычислений на основе OpenCL завершают список основных свойств *Sibernetic*, определяющих его высокую практическую ценность и перспективы дальнейшего развития. Примером более широкого применения данной среды моделирования является магистерская работа А.А. Тарабрина (НГУ, 2015 г.), выполненная под руководством А.Ю. Пальянова, в рамках которой в *Sibernetic* была создана модель двухкамерного сердца с трехстворчатым клапаном.

Согласно статистике GitHub, по состоянию на 2019 г. системой *Sibernetic* заинтересовались (отметили проект как «понравившийся») более 200 человек, а 36 следят за появлением новых возможностей программы и являются её активными пользователями. Имеется механизм обратной связи, позволяющий пользователям контактировать с разработчиками.

В 2018 г. в Лондоне на конференции «Connectome to behaviour: modelling *C. elegans* at cellular resolution» в ходе дискуссии с профессором Джоном Уайтом, первооткрывателем структуры нервной системы *C. elegans* на клеточном уровне [White et al., 1986], им было высказано мнение о том, что *OpenWorm* и *Sibernetic* выполнены на высоком научно-техническом уровне и являются правильным развитием идеи о моделировании *C. elegans*. Многие специалисты как по экспериментальному изучению, так и по компьютерному моделированию *C. elegans* также проявили свой интерес и выразили одобрение относительно полученных результатов и перспектив.

Апробация работы. Высокая степень достоверности разработанных моделей обусловлена как использованием современных экспериментальных данных о морфологии, электрофизиологии и биомеханике исследуемых объектов, так и обоснованным выбором и применением надежных численных методов, и подтверждается в расчетах путем сравнения результатов с известными численными и экспериментальными данными при решении аналогичных задач. Достоверность эффективности параллельных алгоритмов и прикладных программ подтверждается их практическим применением на высокопроизводительных вычислительных системах и сравнением с ближайшими по функциональности существующими аналогами.

Результаты работы были представлены в 19 докладах на конференциях, совещаниях и семинарах разного уровня: «Connectome to behaviour: modelling *C.*

elegans at cellular resolution», The Royal Society, г. Лондон, Великобритания, 2018 (приглашенный устный доклад); 1st NIPS Workshop on Worm's Neural Information Processing, г. Лонг-Бич, США, 2017; International Conference «Mathematical modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology», Новосибирск, 2018, 2016 (приглашенные устные доклады), 2014; International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology, Новосибирск, 2016, 2012, 2010, 2008; симпозиум «Cognitive Sciences, Genomics and Bioinformatics», Новосибирск, 2016 (устный доклад); Международная конференция «Актуальные проблемы вычислительной и прикладной математики», Новосибирск, 2015; 24th Annual Computational Neuroscience Meeting, г. Прага, Чехия, 2015; 22nd Annual Meeting for Computational Neuroscience, г. Париж, Франция, 2013; 5th INCF Congress of Neuroinformatics, г. Мюнхен, Германия, 2012; 4th INCF Congress of Neuroinformatics, г. Бостон, США, 2011; Международная конференция «Современные проблемы математики, информатики и биоинформатики», Новосибирск, 2011; Ершовская конференция по информатике (семинар «Наукоёмкое программное обеспечение»), Новосибирск, 2011, 2009; XV Международная конференция по нейрокибернетике, Ростов-на-Дону, 2009.

Гранты и проекты. Работа над диссертацией производилась при финансовой поддержке следующих грантов и проектов:

- Грант РФФИ №18-07-00903-А «Компьютерное моделирование и валидация механизмов генерации периодических сигналов и управления мышцами тела в нервной системе *C. elegans*», 2018-2020 гг., руководитель – А.Ю. Пальянов.
- Грант Президента РФ № МК-5714.2015.9 «Разработка методологии и алгоритмической базы для создания первого виртуального организма под управлением биологически обоснованной компьютерной модели его нейронной сети», 2015-2016 гг., руководитель – А.Ю. Пальянов.
- Грант РФФИ №14-14-00325 «Развитие гидродинамического подхода к исследованию процесса укладки белков: поля потоков укладки, потенциал движущих сил и явления турбулентности», 2014-2016 гг., руководитель – д.ф.-м.н., проф. С.Ф. Чекмарев.
- Грант РФФИ №14-07-31039-мол_а, «Разработка методологии и алгоритмической базы для задач моделирования в области биофизики живых систем», 2014-2015 гг., руководитель – А.Ю. Пальянов.
- Междисциплинарный интеграционный проект СО РАН №136 «Исследование информационных и молекулярно-генетических механизмов функционирования сетей нейронов на основе экспериментально-компьютерных подходов», 2012-2014 гг. (руководитель проекта – академик РАН Н.А. Колчанов, ИЦиГ СО РАН; руководитель блока «Компьютерный анализ и моделирование нейронов и сетей

нейронов нематоды *C. elegans*» в ИСИ СО РАН – А.Ю. Пальянов).

- РФФИ 08-04-91104-АФГИР_а «Гидродинамический подход к анализу укладки белков и других сложных реакций», 2008-2009 гг., руководитель – д.ф.-м.н., проф. С.Ф. Чекмарев.
- Базовый проект НИР IV.39.1.5 «Алгоритмы и программные средства для моделирования сложных систем»

Публикации. По теме диссертации опубликовано 38 печатных работ, включая 20 статей в рецензируемых научных изданиях, 14 из которых удовлетворяют требованиям ВАК. Из них 13 индексируются в системе Web of Science, 14 – в Scopus.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, шести глав и заключения, общим объемом 256 страниц, содержит 89 рисунков и 12 таблиц. Список литературы включает 287 наименований.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в проектировании и реализации всех созданных в рамках работы над диссертацией программных средств, проведении с их помощью вычислительных экспериментов и расчетов, анализе полученных результатов и их интерпретации. Содержание диссертации и основные положения, выносимые на защиту, отражают персональный вклад автора в опубликованные работы. У автора отсутствует конфликт интересов с соавторами по публикациям.

Благодарности. Автор благодарен своим коллегам и соавторам, с которыми на разных этапах выполнения исследований имел возможность обсуждать проблемы, рассматриваемые в диссертации: координатору проекта OpenWorm доктору С.Д. Ларсону (Dr. Stephen D. Larson, University of California, San Diego), доктору П. Глисон (Dr. P. Gleeson, University College London), нобелевскому лауреату, профессору М. Карплусу (M. Karplus), академику РАН Н.А. Колчанову, член-корр. РАН А.В. Кочетову, проф. Дж.Г. Уайту (Prof. J.G. White, University of Cambridge), д.ф.-м.н., проф. С.Ф. Чекмареву, д.б.н. А.С. Ратушняку, С.С. Хайрулину и Н.В. Пальяновой. Особую благодарность выражаю профессору, д.ф.-м.н. А.Г. Марчуку за внимание к работе, обсуждение многих сложных вопросов, возникавших в ходе исследований, и за научное консультирование при подготовке диссертации.

Содержание работы.

Во **Введении** обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы ее цели и задачи, представлены методы исследований, аргументированы научная новизна полученных результатов, их практическая значимость, отображен личный вклад автора.

Глава 1 посвящена проблемам и перспективам создания искусственных разумных систем и решения проблемы обратной инженерии мозга, а также компьютерного моделирования процессов, лежащих в основе нервной деятельности и поведения живых организмов. Представлен обзор и анализ современного состояния научных исследований, направленных на осуществление биологически достоверной компьютерной симуляции, воспроизводящей нейробиологические процессы в живых организмах, включая рассмотрение используемых при этом вычислительных систем, специализированных методов, алгоритмов, программного обеспечения и источников нейробиологических данных. Приведены примеры компьютерного моделирования систем, соответствующих различным уровням их структурной организации – от механизма работы рибосомы, осуществляющей синтез белка по последовательности нуклеотидов РНК, до динамики электрической активности фрагмента коры головного мозга крысы, включающего 1 млн. нейронов и 10^{10} контактов между ними. Также затрагиваются вопросы энергоэффективности, быстродействия, плотности хранения информации и ряда других свойств нервных клеток живых организмов в сравнении с таковыми для компьютерных систем. Помимо этого, рассмотрена проблема определения уровня детализации модели нервной клетки, необходимого для того, чтобы охватить наиболее важные нейробиологические процессы и при этом не тратить вычислительные ресурсы на не связанные с ними механизмы, обеспечивающие жизнедеятельность клетки.

Ввиду колоссальной сложности нервных систем и задействованных в их работе механизмов многие ученые разделяют мнение об исключительной важности создания компьютерной симуляции, построенной на основе знаний об электрофизиологии и структуре нервной системы как можно более простого и изученного многоклеточного организма. Это необходимо для понимания того, насколько хорошо соотносятся современные научные представления о механизмах функционирования нервной системы и реальность. На роль простого организма отлично подходит нематода *C. elegans*, уже упомянутая ранее. Основные системы, которые необходимо включить в симуляцию, с учетом взаимодействий между ними, представлены на Рис. 1. В завершение главы обсуждаются дальнейшие перспективы исследований в области изучения и компьютерного моделирования нейробиологических процессов в живых организмах.

В **Главе 2** организм *C. elegans* рассматривается в контексте задач моделирования его нервной активности и поведения. В первую очередь рассматривается структура его нервной системы, включая оценки целостности и качества имеющихся данных, а также характеризующие её электрофизиологические и морфологические параметры.

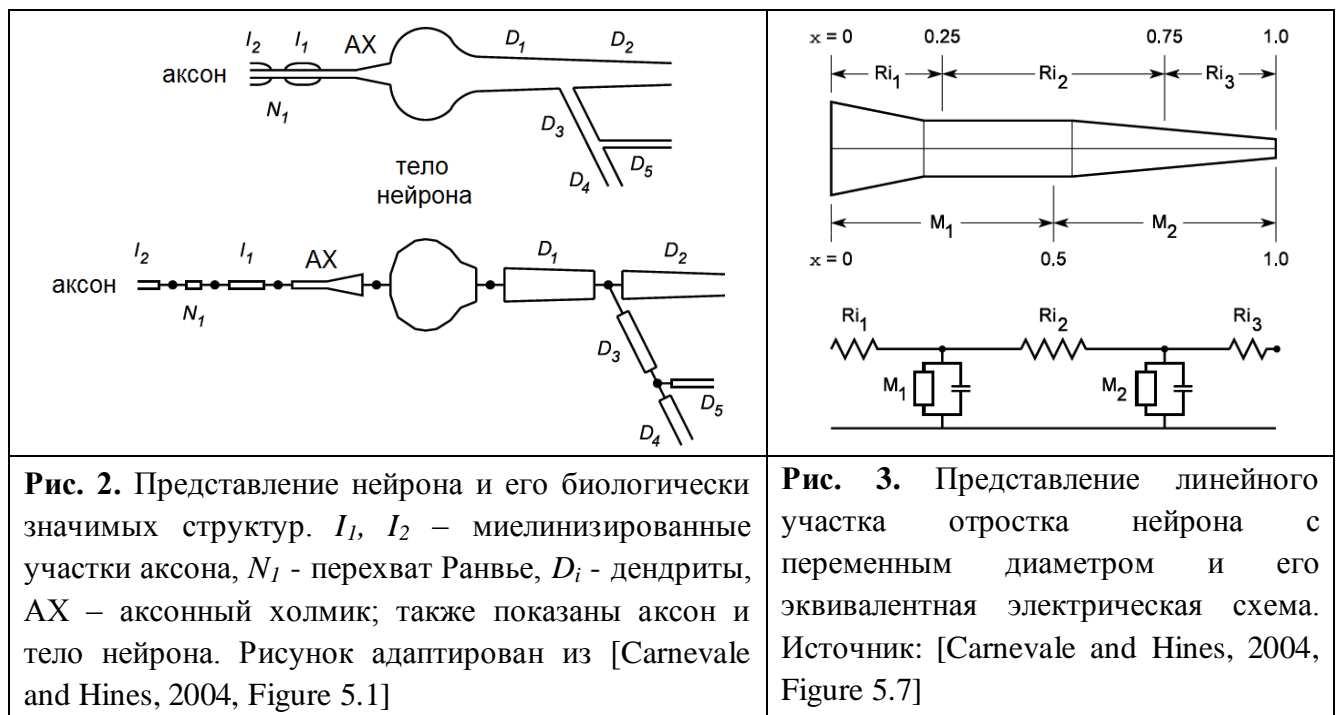


Последующие разделы посвящены связям нервной системы с сенсорной и мышечной системами. Также рассматривается актуальный вопрос о взаимосвязи между регистрируемыми сигналами интенсивности флуоресценции нервных и мышечных клеток, внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в них и нейронной активностью. Далее тело и мышечная система рассматриваются с точки зрения физики взаимодействия тела с окружающей средой и биомеханики его движения в различных условиях. Помимо этого, в данной главе представлен обзор имеющихся методов компьютерного моделирования различных систем, образующих организм *C. elegans*, и происходящих в них процессов.

Среди программных средств, предназначенных для моделирования динамики как электрической активности отдельных нейронов, так и сетей взаимодействующих между собой нервных клеток (которые могут контактировать между собой посредством электрических или химических синапсов) с учетом их морфологии и электрофизиологии, наиболее известными являются NEURON (<https://www.neuron.yale.edu/neuron/>) [Carnevale and Hines, 2006] и GENESIS (<http://genesis-sim.org/>). В рамках данной работы использовался NEURON, поскольку он имеет ряд удобных особенностей программной реализации – встроенный язык программирования и Neuron Model Description Language (NMODL) [Hines and Carnevale, 2000; Gleeson et al., 2010] – язык описания модели нейрона, включающий такие механизмы и структурные уровни модели, как

ионные токи, ионные каналы, кальциевые насосы и кальциевые депо, а также иные вне- и внутриклеточные механизмы. Он позволяет пользователям значительно расширять стандартный репертуар моделей и механизмов за счет собственных разработок.

В основе метода моделирования электрической активности нервной клетки лежит её представление в виде эквивалентной электрической схемы. Отростки нейронов имеют свойство ветвиться и могут обладать различными значениями диаметра на разных участках, поэтому обычно клетка представляется в виде совокупности неветвящихся секций и точек ветвления (Рис. 2).



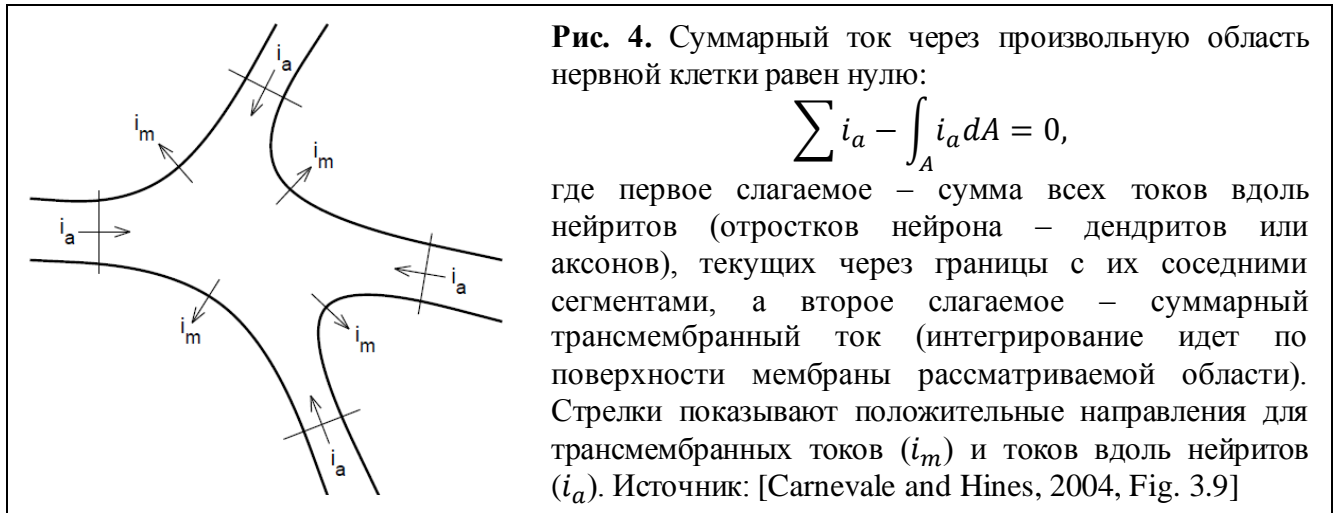
Каждый из линейных участков во внутреннем представлении программы дополнительно разбивается на ряд более мелких участков (дискретизация может быть либо выбрана по умолчанию, либо задана пользователем при создании объекта). На Рис. 3 показано, как соотносится линейный участок отростка нейрона и его электрическая схема. Данное базовое представление уже позволяет наделять моделируемый участок отростка нейрона такими электрофизиологическими свойствами, как удельная емкость участка мембраны, сопротивление току утечки через мембрану и сопротивление аксоплазмы. Распространение электрических сигналов вдоль неветвящегося участка цепи определяется одномерным кабельным уравнением [Rall, 1977]:

$$\frac{\partial V}{\partial T} + V = \frac{\partial^2 V}{\partial X^2},$$

где $V = V_m - E_r$ соответствует отклонению мембранного потенциала клетки, V_m , от его значения в покое, E_r . При этом $X = x/\lambda$, где $\lambda = \sqrt{r_m/r_i} = \sqrt{(R_m/R_i)(d/4)}$, где d – диаметр отростка нейрона, r_m – удельное сопротивление мембраны

клетки, r_i – удельное сопротивление внутриклеточной среды (intracellular medium). Аналогично, $T = t/\tau_m$, где $\tau_m = r_m c_m$, а c_m – удельная электрическая емкость участка мембраны.

Для случая ветвления отростка нейрона закон сохранения заряда требует, чтобы сумма всех токов, протекающих через произвольную область (фрагмент) нейрона, была равна нулю (пример схематично представлен на Рис. 4):



В случае, если в системе присутствуют электроды, введенные в клетку, уравнение принимает следующий вид:

$$\sum i_a - \int_A i_a dA + \int_A i_s dA = 0.$$

Физический размер электрода обычно мал по сравнению с диаметром нейрита, поэтому математическая форма записи для i_s обычно представляется дельта-функцией позиции i_s на нейрите – $i_s \cdot \delta(x - x_0, y - y_0, z - z_0)$.

Стандартный подход при компьютерной симуляции состоит в разделении нейрона на области (компарменты), достаточно малые для того, чтобы изменения i_m при изменении координаты в направлении вдоль нейрита для любого компартамента j хорошо аппроксимировались значением i_m в центре компартамента. При этом приведенная ранее запись в интегральной форме преобразуется к следующему виду:

$$i_{m_j} A_j = \sum_k i_{a_{kj}},$$

где A_j – площадь поверхности компартамента j . До этого момента мы полагались только на закон сохранения заряда. Теперь задействуем закон Ома, чтобы рассчитать аксиальные токи между компарментом j и его соседями: каждый аксиальный ток аппроксимируется изменением потенциала между центрами компарментов, отнесенным к сопротивлению на пути между этими точками:

$$i_{a_{kj}} = (v_k - v_j)/r_{jk},$$

$$i_{m_j}A_j = \sum_k (v_k - v_j)/r_{jk}.$$

Это автоматически обеспечивает корректный учет направлений аксиальных токов, принимая, что $v_j < v_k$ соответствует току, втекающему в компартмент j . Суммарный мембранный ток определяется суммой емкостных и ионных компонентов:

$$i_{m_j}A_j = c_j \frac{dv_j}{dt} + i_{ion_j}(v_j, t),$$

где c_j – емкость мембраны компартмента j , а i_{ion_j} соответствует вкладу от ионных каналов с изменяющимися проводимостями (например, есть потенциал-зависимые ионные каналы). Пространственная дискретизация для ветвящегося нейрита приводит в итоге к следующей системе обыкновенных дифференциальных уравнений (по одному на каждый компартмент):

$$c_j \frac{dv_j}{dt} + i_{ion_j}(v_j, t) = \sum_k (v_k - v_j)/r_{jk}.$$

Источники тока могут быть добавлены к правой стороне уравнения. Помимо этого, в программе можно использовать усилители сигнала, а также различные внутриклеточные электрохимические механизмы, которые подробно описаны в [Carnevale and Hines, 2004] и документации к программе NEURON.

В **Главе 3** рассматривается первая предложенная автором модель тела (Рис. 5) и мышечной системы *C. elegans* (Рис. 6), активностью которой управляет подключенный к ней фрагмент брюшной нервной цепочки (Рис. 7) [Palyanov et al., 2011]. В рамках данного подхода удалось смоделировать движение *C. elegans* по горизонтальной поверхности – как вперед, так и назад (реверс). При моделировании движения в качестве параметра, определяющего модель среды, использовалось отношение коэффициентов трения $K = C_{\perp}/C_{\parallel}$ (C_{\perp} – нормальный, C_{\parallel} – тангенциальный относительно поверхности тела) между телом и средой – аналогично тому, как это было сделано в работах [Berry et al., 2009; Boyle et al., 2012].

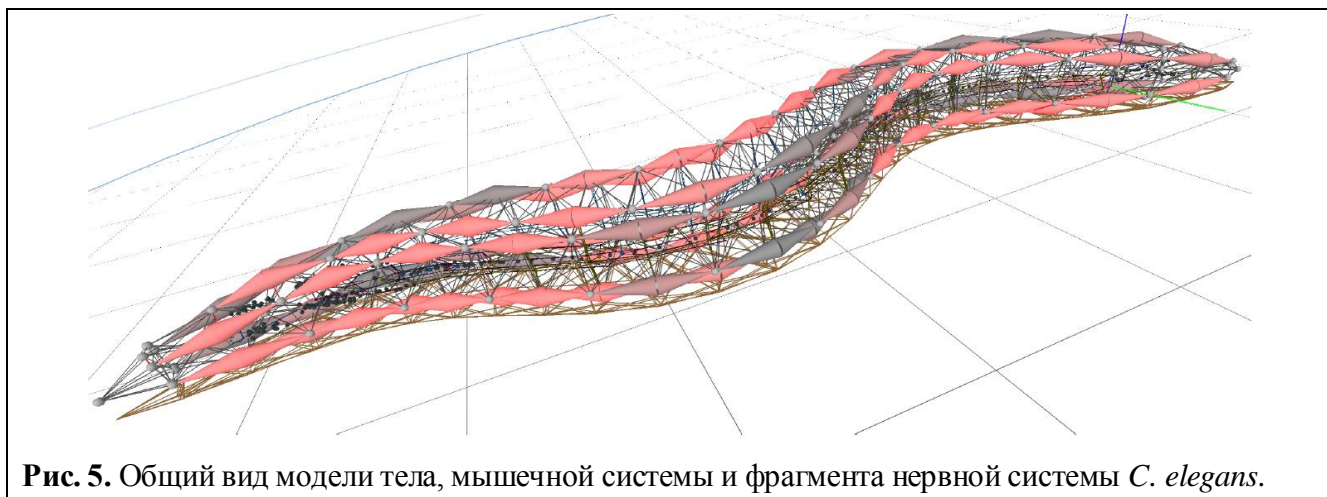


Рис. 5. Общий вид модели тела, мышечной системы и фрагмента нервной системы *C. elegans*.

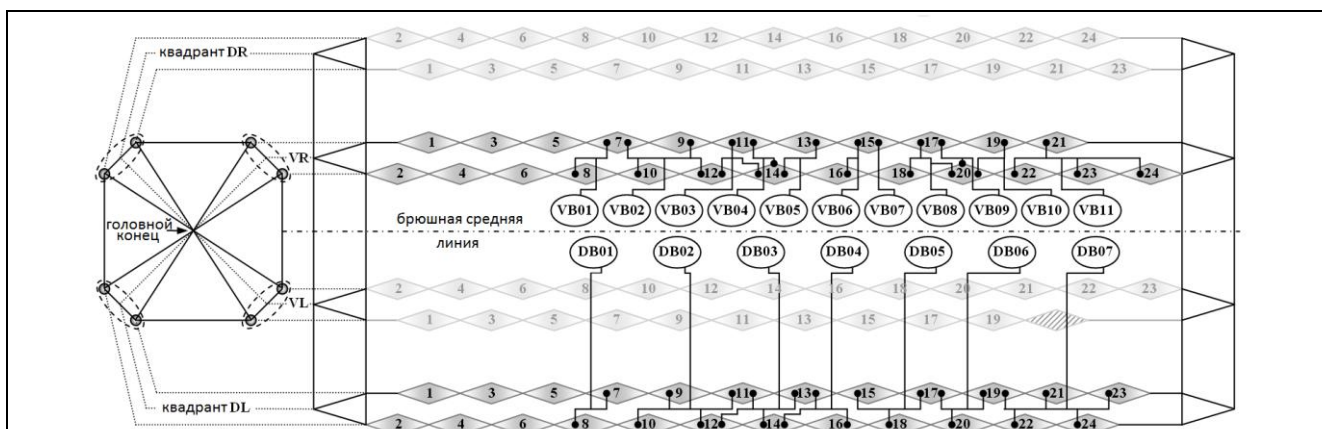


Рис. 6. Схема расположения мышечных клеток и связей между ними и моторными нейронами, связанными с движением вперед. Для каждой группы (VB и DB) показана только одна сторона для удобства представления информации – противоположная устроена симметрично за исключением единственной клетки в секторе VL, не имеющей пары (заштрихована), как и у реального организма.

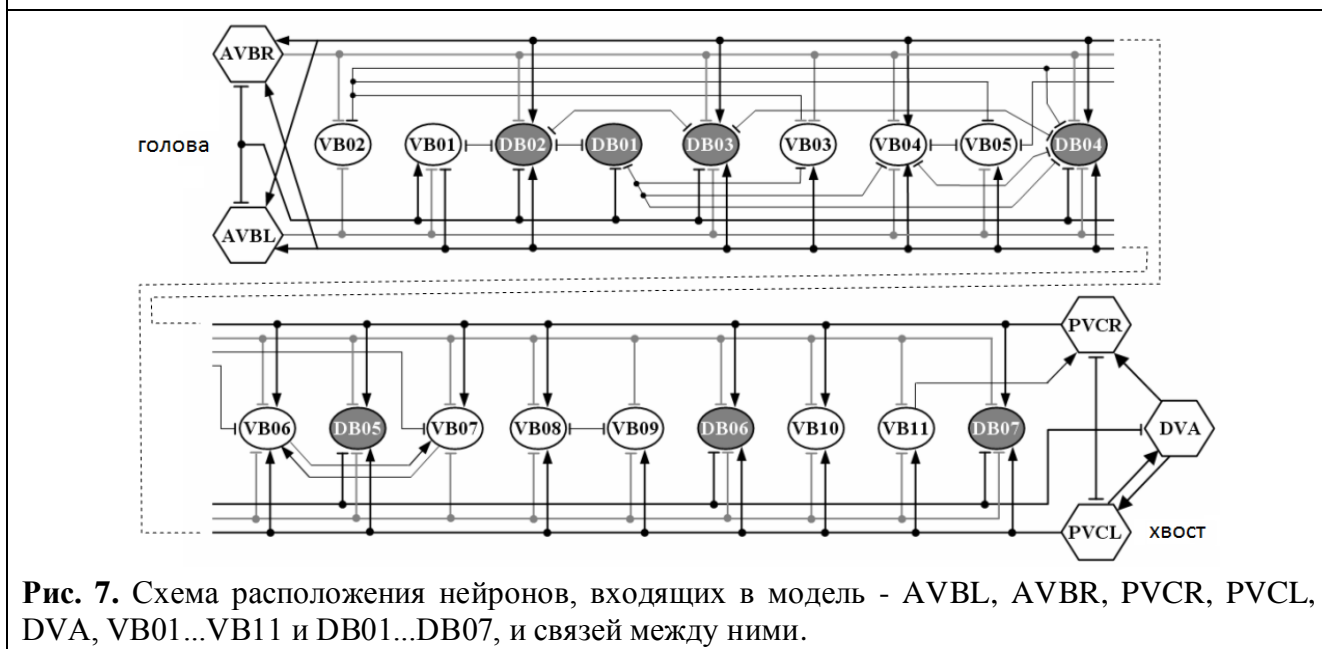


Рис. 7. Схема расположения нейронов, входящих в модель - AVBL, AVBR, PVCR, PVCL, DVA, VB01...VB11 и DB01...DB07, и связей между ними.

На момент публикации разработка во многом превосходила уже имеющиеся в мире модели по следующим параметрам:

- Воспроизведена геометрия профиля тела в продольном направлении. В поперечном сечении тело представлено не квадратом, как в более ранней модели [Mailler et al., 2010], а восьмиугольником. Первая трехмерная модель, в которой явным образом представлены и правильно расположены все 95 мышечных клеток, управляющих движением тела.
- При расчете распространения сигналов вдоль отростков нейронов учитывается их длина для расчета затухания сигнала и его задержки во времени.
- Реализована 3D визуализация движения тела, активности нервных и мышечных клеток и распространения сигналов между ними в процессе симуляции.

Помимо этого, была реализована возможность выбирать и активировать нейроны в процессе симуляции, прослеживая распространение сигналов и их влияние на функционирование системы. Данный этап работы позволил получить ценный практический опыт в области моделирования различных систем *C. elegans* и выявить аспекты, которые будет необходимо принципиально улучшить при проектировании более совершенной программной системы моделирования, которая создавалась в контакте с коллегами по международному проекту OpenWorm, включая специалистов по анатомии и нейрофизиологии *C. elegans*.

Глава 4 посвящена разработке программной системы нового поколения, названной *Sibernetic*, открывающей возможности решения широкого спектра задач моделирования в области гидродинамики, механики сплошных сред, биомеханики беспозвоночных и других биологических объектов. Представлен обзор имеющихся программных средств, ориентированных на задачи моделирования динамики жидкости и движения живых организмов, перечислены их достоинства и недостатки, сформулированы требования к программному обеспечению, необходимому для моделирования не только движения по поверхности геля, но и плавания в жидкости, и сделан вывод о необходимости создания собственной программной системы.

В **разделе 4.1** изложены теоретические основы вычислительного метода PCISPH [Solenthaler et al., 2009; Solenthaler, 2010], предназначенного для моделирования движения несжимаемой жидкости. Он основан на лагранжевом подходе к описанию движущихся жидкостей, которые представляются набором частиц, переносящих материальные и динамические свойства среды. В основе любого метода, основанного на SPH, значение любой физической величины A в точке r , задаётся формулой [Müller et al, 2003]:

$$A(r) = \sum_j m_j \frac{A_j}{\rho_j} W(|r - r_j|, h),$$

где m_j - масса частицы j , A_j - значение величины A для частицы j , ρ_j - плотность жидкости в области пространства с центром в частице j , h - радиус сглаживания и $W(|r|, h)$ - сглаживающая функция ядра с радиусом h . Движение несжимаемой жидкости описывается системой дифференциальных уравнений Навье-Стокса:

$$\rho \left(\frac{\partial}{\partial t} + v \cdot \nabla \right) v = -\nabla p + \mu \nabla \cdot (\nabla v) + f, \text{ (сохранение момента)}$$

$$\frac{\partial}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho v) = 0, \text{ (сохранение массы)}$$

где μ - коэффициент вязкости, f - сумма всех внешних сил, действующих на частицу, v - скорость частицы, p - давление. Использование частиц существенно упрощает оба эти уравнения. Во-первых, поскольку число частиц постоянно и масса каждой из них неизменна, то сохранение массы гарантировано и второе

уравнение становится ненужным. Во-вторых, поскольку частицы движутся вместе с жидкостью, полная производная поля скоростей обращается в частную производную скорости по времени, т.е. для системы частиц конвективный член $v \cdot \nabla v$ равен нулю. Для i -й частицы уравнение движения можно записать следующим образом [Müller et al., 2003]:

$$m_i \frac{\partial v_i}{\partial t} = F_i^{pressure} + F_i^{external} + F_i^{viscosity},$$

а сила давления и сила вязкости рассчитываются по следующим формулам:

$$F_i^{pressure} = -\frac{m_i p_i + p_j}{\rho_i} \frac{1}{2} \nabla W(r_{ij}, h),$$

$$F_i^{viscosity} = \frac{m_i}{\rho_i} \sum_j \frac{m_j \mu_i + \mu_j}{\rho_j} \frac{1}{2} (v_j - v_i) \nabla^2 W(r_{ij}, h).$$

Среди семейства SPH-методов моделирования жидкости имеется базовый метод SPH [Gingold et al., 1977], не обеспечивающий несжимаемости, метод WCSPH (weakly compressible SPH, слабосжимаемая жидкость) [Becker et al., 2007] и, наконец, метод PCISPH [Solenthaler et al., 2009], обеспечивающий несжимаемость в пределах заданной точности. Особенностью PCISPH является использование схемы «предиктор-корректор» для вычисления давления в точках пространства, занятых частицами. Для этого информация о флуктуациях плотности активно распространяется в жидкости и значения давления обновляются до тех пор, пока значения плотности во всей системе не станут удовлетворительными. Такой подход позволяет избежать вычислительных затрат на решение уравнения Пуассона и при этом использовать достаточно большие значения шага интегрирования в симуляции. Сравнение с методом WCSPH показывает превосходство PCISPH в производительности более чем в 10 раз, при том, что результаты расчетов находятся в хорошем согласии друг с другом [Solenthaler, 2010]. В составе программной системы *Sibernetis* метод PCISPH был впервые реализован в виде открытого исходного кода [Palyanov et al., 2016]. Поддержка высокопроизводительных параллельных вычислений осуществлена с использованием технологии OpenCL. *Sibernetis* упомянут в статье «Гидродинамика сглаженных частиц» в Википедии, в разделе «Использование в биологии».

В разделе 4.2 рассмотрена эффективная реализация алгоритма поиска соседних частиц, а в 4.3 описан подход к моделированию других типов объектов одновременно с жидкостью. Эластичный материал представляется в виде сложной упорядоченной системы частиц, связанных между собой эластичными неразрывными соединениями (пружинами) [Terzopoulos et al., 1988], каждая из которых задается явным образом – парой индексов частиц, значением жесткости пружины и её длины в состоянии покоя. На частицы эластичного материала действуют силы упругости, рассчитываемые для каждой пружины в соответствии с законом Гука, а также силы вязкости и давления (как и на частицы жидкости),

чтобы при сжатии объекта в одном направлении происходило его расширение в двух других, а также для обеспечения релаксации при колебательных процессах.

Далее, на основе обычного эластичного материала реализована возможность создавать «мышечные волокна», способные сокращаться под действием приходящего внешнего сигнала в соответствии с его интенсивностью. Для этого для каждой пары частиц, соединенных «мышечным волокном», при его активации вводится добавочная сближающая частицы сила, величина которой пропорциональна значению управляющего сигнала.

Помимо этого, для создания модели тела *C. elegans* возникла необходимость реализовать механизм обработки взаимодействия между движущимися объектами и неподвижными границами. Он базируется на методе, описанном в работе [Ihmsen et al., 2010] – граница представляется в виде набора неподвижных частиц, расположенных в узлах решетки с заданным шагом, для каждой из которых задан вектор нормали. При попадании i -й частицы в поле действия граничных частиц (это происходит в случае, если $\|r_i - r_b\| \leq r_0$, где $r_0 = h/2$) возникают силы отталкивания, пропорциональные расстояниям от частицы до границы:

$$v_i(t + \Delta t) = \varepsilon[v_i^*(t + \Delta t)]_t - \delta[v_i(t)]_n$$

$$r_i(t + \Delta t) = r_i^*(t + \Delta t) + \|(r_i^*(t + \Delta t) - r_b)\| \cdot n_b$$

где $[v_i(t)]_n = (v_i(t) \cdot n_b) \cdot n_b$ определяет компоненту скорости, нормальную к границе, а $[v_i^*(t + \Delta t)]_t = v_i^*(t + \Delta t) - [v_i^*(t + \Delta t)]_n$ – тангенциальную. ε и δ , лежащие в интервале от 0 до 1, контролируют трение и эластичность столкновения с границей. Величины со звездочкой обозначают исходное значение (до учета столкновения). Индекс "b" обозначает граничную (boundary) частицу, "t" – тангенциальную и "n" – нормальную компоненты вектора.

В случае контакта одновременно с несколькими граничными частицами их вектора нормалей усредняются с «весами», зависящими от расстояния между i -частицей и данной граничной частицей [Ihmsen et al., 2010]:

$$n_i^c = \sum_b w_{ib}^c n_b, \quad w_{ib}^c = \max\left(0, \frac{r_0 - \|r_{ib}^*\|}{r_0}\right) \quad (1)$$

где $\|r_{ib}^*\| = \|r_i^*(t + \Delta t) - r_b\|$. Затем координаты и скорость i -й частицы корректируются следующим образом:

$$r_i(t + \Delta t) = r_i^*(t + \Delta t) + \frac{1}{\sum_b w_{ib}^c} \sum_b w_{ib}^c \|(r_0 - r_{ib}^*)\| \cdot \frac{n_i^c}{\|n_i^c\|} \quad (2)$$

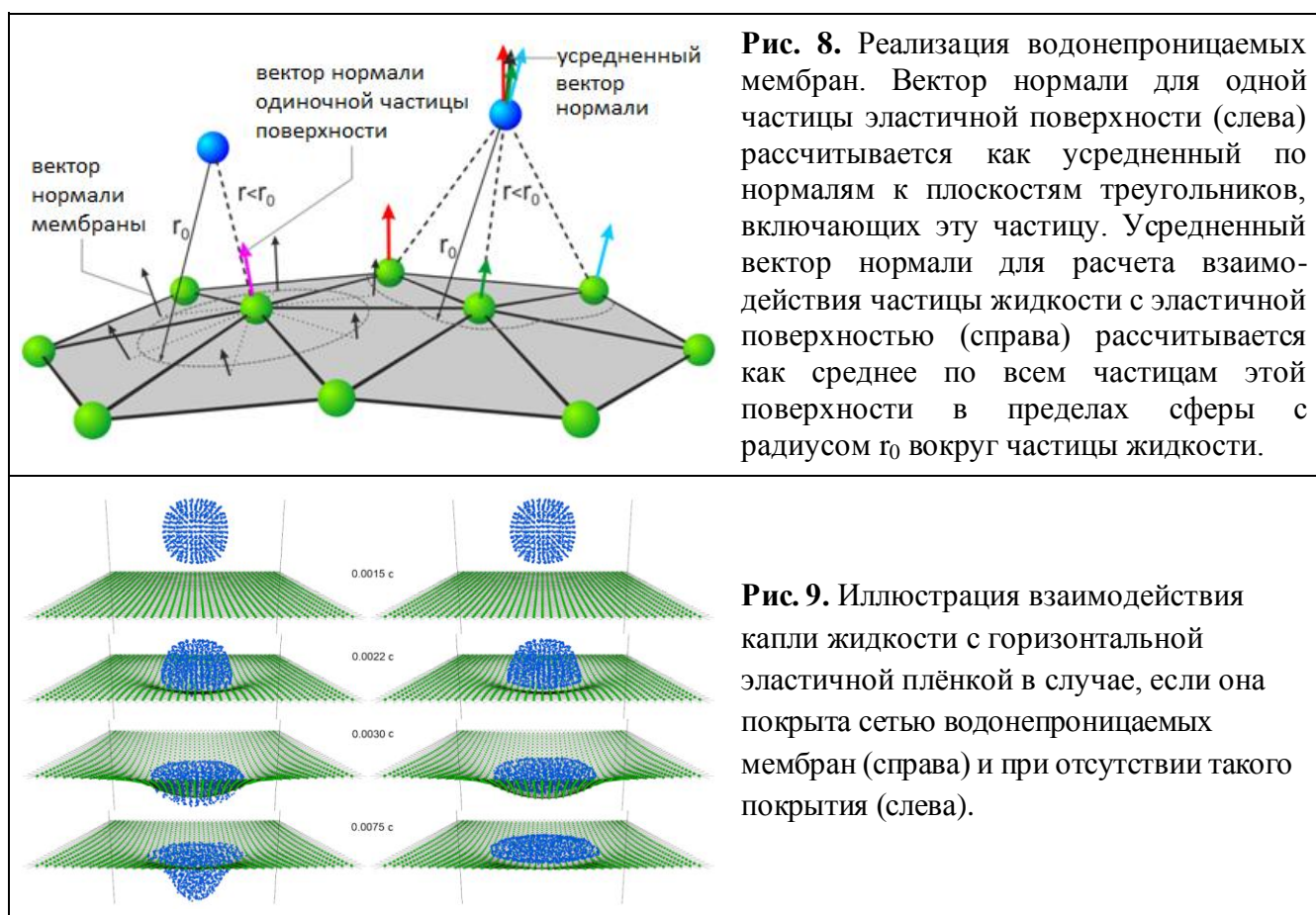
$$v_i(t + \Delta t) = \varepsilon[v_i^*(t + \Delta t)]_t$$

Данный подход позволяет корректно обрабатывать взаимодействие с границей, а кроме того, обеспечивает возможность создавать границы различных форм.

Многие биологические объекты обладают водонепроницаемыми оболочками, в том числе и *C. elegans*, форма тела которого поддерживается благодаря

«гидростатическому скелету» – внутренней среде, находящейся под избыточным давлением [Harris et al., 1957]. Если использовать при симуляции такой оболочки обычный эластичный материал, то сквозь неё наблюдается значительная утечка жидкости. Автором было предложено эффективное решение этой проблемы, основанное на покрытии поверхности эластичного объекта сетью треугольных «мембран», отталкивающих любую частицу, подошедшую достаточно близко.

На каждом шаге симуляции при контакте частицы жидкости с окрестностью мембраны вычисляется сила отталкивания, воздействие которой корректирует ее координаты и скорость. На каждой итерации при контакте частицы жидкости i с частицей эластичного тела j (т.е. при $\|r_i - r_j\| \leq r_0$) определяется число мембран, в состав которых она входит (т.е. имеющих один из трех своих индексов равный j) (Рис. 8). Если это число больше нуля, то для каждой из этих элементарных мембран вычисляется сначала проекция частицы i на мембрану, затем – вектор нормали к плоскости мембраны, и, наконец, результирующий вектор нормали n_i^m , усредненный по всем мембранам. Далее скорость и позиция частицы i корректируются в соответствии с (1) и (2) с использованием n_i^m вместо n_i^c . Разница между обычной и водонепроницаемой эластичными плёнками показана на Рис. 9.



Раздел 4.4 посвящен созданию модели тела и мышечной системы *C. elegans*. Как известно из работ по экспериментальному изучению строения тела *C. elegans* [White et al., 1986; Petzold et al., 2011 и др.], оно покрыто достаточно

прочной внешней оболочкой, к которой изнутри крепятся 95 мышечных клеток, расположенных в нем в виде 4-х мышечных тяжей, идущих вдоль тела от головного до хвостового отдела. Продольная и поперечная структура трехмерной модели тела представлена на Рис. 10 (C,D) и Рис. 11 А, соответственно.

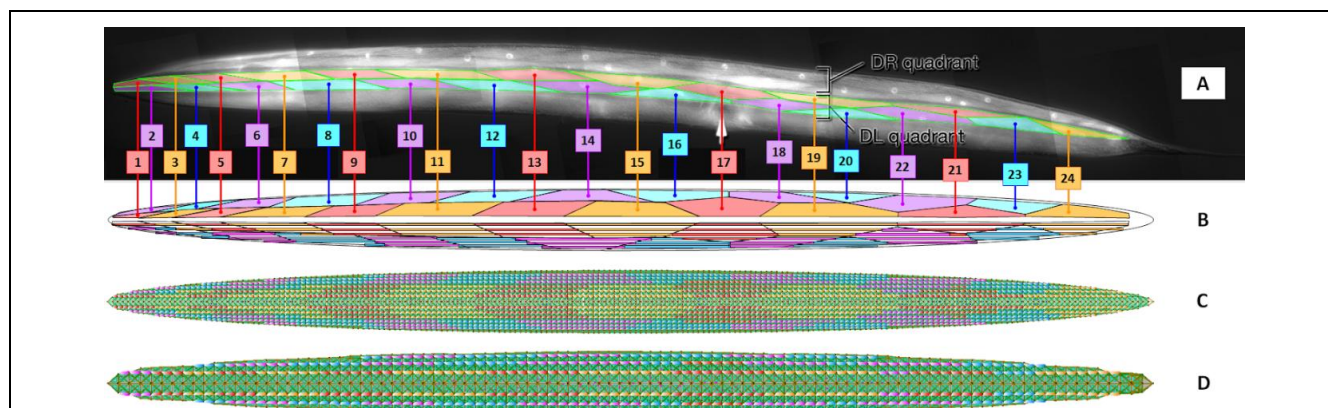


Рис. 10. (А) Микрофотография мышечных клеток *C. elegans* (источник: WormAtlas). (В) Геометрия мышечных клеток, перенесенная на основу для модели. (С) Расположение групп мышечных волокон, соответствующих мышечным клеткам, на поверхности тела модели *C. elegans* (нормальное разрешение) и (D) то же для вдвое более низкого разрешения.

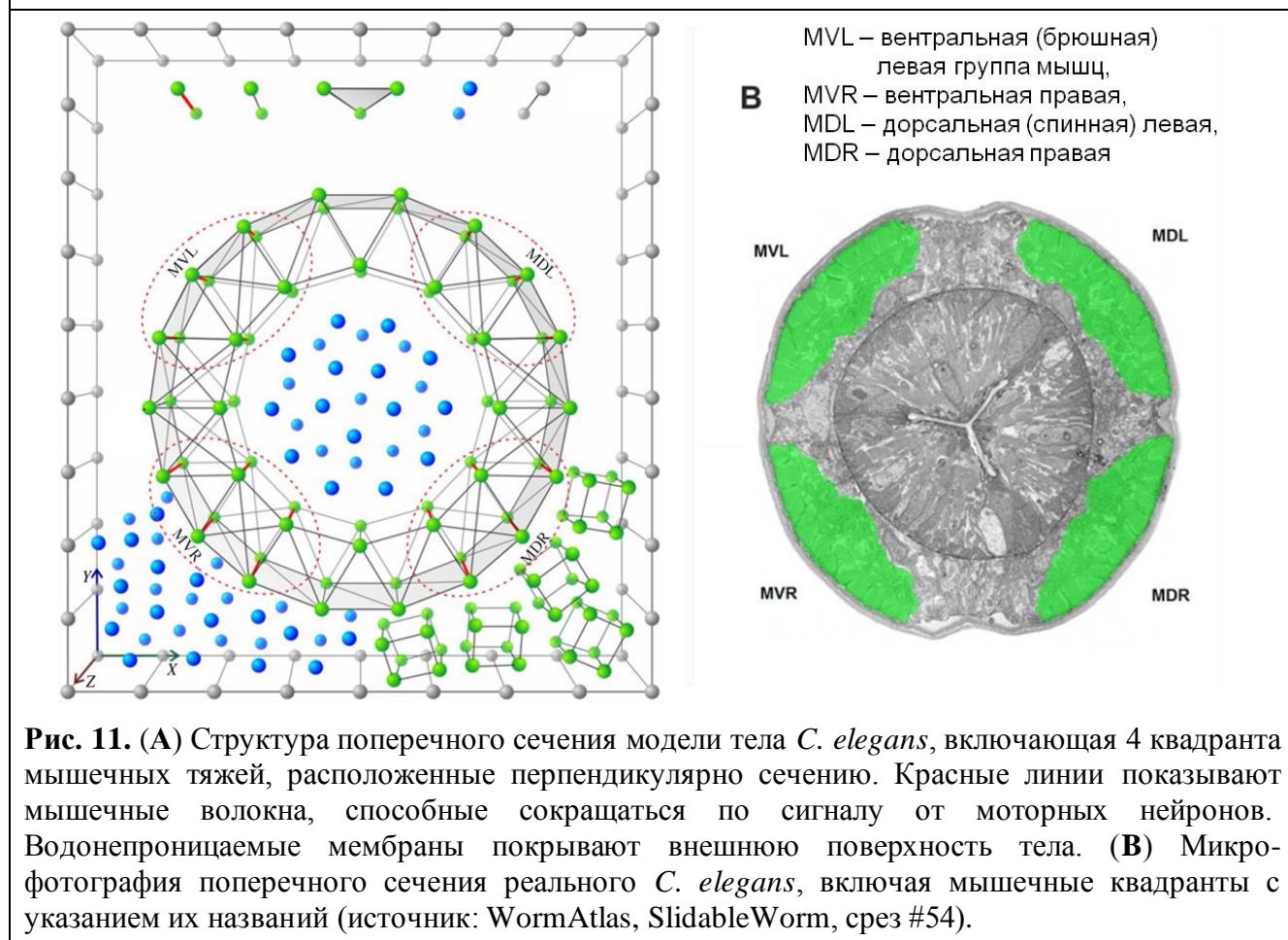


Рис. 11. (А) Структура поперечного сечения модели тела *C. elegans*, включающая 4 квадранта мышечных тяжей, расположенные перпендикулярно сечению. Красные линии показывают мышечные волокна, способные сокращаться по сигналу от моторных нейронов. Водонепроницаемые мембраны покрывают внешнюю поверхность тела. (В) Микрофотография поперечного сечения реального *C. elegans*, включая мышечные квадранты с указанием их названий (источник: WormAtlas, SlidableWorm, срез #54).

Раздел 4.5 посвящен проведению численных экспериментов по симуляции движения, осуществленных с использованием Sibernetica, в различных ситуациях и средах [Palyanov et al., 2018], а также их сравнению с таковыми для реального *C.*

elegans. Для моделирования движения в наиболее типичных режимах плавания в жидкости и ползания по поверхности агара [Fang-Yen 2010; Shen et al., 2012; Lüersen 2014] в *Sibernetiс* были созданы соответствующие тестовые сцены.

Таблица 1. Значения, известные из экспериментов, и результаты симуляции в *Sibernetiс*.

Физическая величина	Эксперимент	Симуляция в <i>Sibernetiс</i>
Скорость (мм/с)		
Движение по поверхности геля (10-100 мПа·с) https://www.youtube.com/watch?v=olrkWpCqVCE	0.1-0.3 [Lüersen et al., 2014] 0.19 (вперед) / 0.3 (назад) (анализ видеозаписи)	0.13...0.15
Плавание в жидкости с низкой вязкостью (≈ 1 мПа·с) https://www.youtube.com/watch?v=qDvSYxNGSNg	0.29 \pm 0.03 [Lüersen et al., 2014] 0.38 \pm 0.02 [Shen et al., 2012] 0.29...0.38 (анализ видеозаписи)	0.26...0.41
Нормализованная длина волны, λ/L , где L – длина тела нематоды		
Движение по поверхности геля (10-100 мПа·с)	0.65 \pm 0.03 [Fang-Yen et al., 2010] 0.48 (анализ видеозаписи)	0.57...0.85
Плавание в жидкости с низкой вязкостью (≈ 1 мПа·с)	1.54 \pm 0.04 [Fang-Yen et al., 2010] 2.15 \pm 0.07 [Shen et al., 2012] 1.54 (анализ видеозаписи)	1.49...1.66
Частота, Гц		
Движение по поверхности геля (10-100 мПа·с)	0.3 \pm 0.02 [Fang-Yen et al., 2010] 0.30...0.49 (анализ видеозаписи)	0.27...0.41
Плавание в жидкости с низкой вязкостью (≈ 1 мПа·с)	1.76 \pm 0.07 [Fang-Yen et al., 2010] 1.99 \pm 0.05 [Shen et al., 2012] 1.76 (анализ видеозаписи)	1.75...1.79

При движении *C. elegans* параметры управляющего мышцами сигнала – частота и длина волны, а также регистрируемая при этом поступательная скорость – зависят от вязкости жидкости, поэтому важно определить её для жидкости, используемой в симуляции. Коэффициент вязкости определялся с помощью численного эксперимента в системе *Sibernetiс*, основанного на законе Стокса, согласно которому установившаяся скорость свободно падающей в жидкости сферической частицы определяется следующей формулой:

$$V_s = \frac{2}{9} \cdot \frac{r^2 \cdot g \cdot (\rho_p - \rho_f)}{\mu},$$

где V_s – установившаяся скорость частицы (м/с), r – радиус частицы, g – ускорение свободного падения (м/с²), ρ_p – плотность частицы (кг/м³), ρ_f – плотность жидкости (кг/м³), μ – динамическая вязкость жидкости (Па·с).

Помимо обычного режима плавания, в котором изменение формы тела задается периодическим сигналом с определенной частотой, в работе по изучению механизмов его генерации в организме *C. elegans* [Fouad et al., 2018]

была заблокирована передача нервных сигналов на участке в области первой трети между головой и хвостом. В результате оказалось, что в такой ситуации передняя часть тела производит осцилляции с одной частотой, а задняя – с другой (гипотеза о распределенных генераторах). Этот эксперимент также удалось воспроизвести в *Sibernetica* с помощью уже описанной модели тела *C. elegans*. Модель также демонстрирует возможность принимать форму тела, характерную для *C. elegans* при осуществлении разворота (т.н. « Ω -turn»); производить реверс, т.е. смену направления движения на обратное, при ползании и осуществлять сокращение всего тела при одновременной активации всех мышц. И, наконец, в рамках данной работы впервые в мире было продемонстрировано как ползание, так и плавание модели тела *C. elegans* в единой симуляции (смена режима движения происходит при пересечении границы двух различных сред) (Рис. 12):

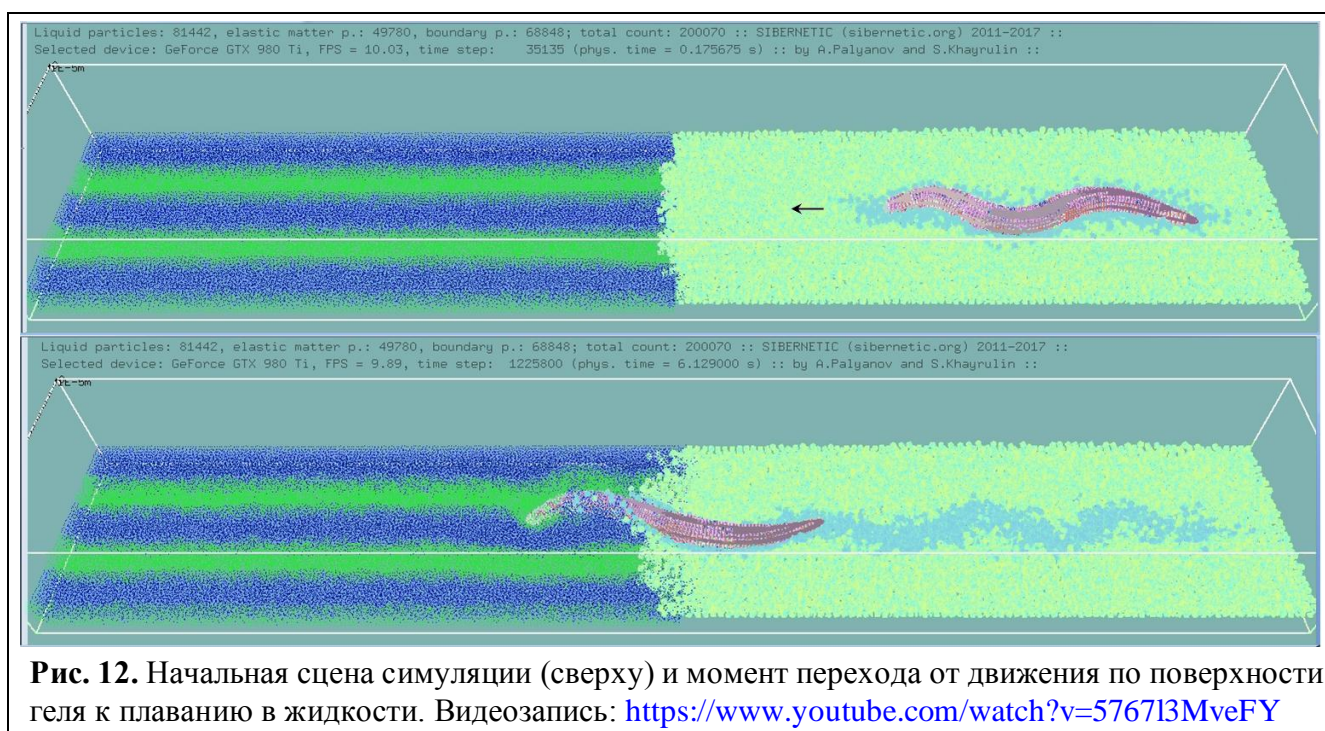


Рис. 12. Начальная сцена симуляции (сверху) и момент перехода от движения по поверхности геля к плаванию в жидкости. Видеозапись: <https://www.youtube.com/watch?v=576713MveFY>

Таким образом, в рамках описанных численных экспериментов удалось установить соотношения между численным экспериментом и реальным процессом и пронаблюдать хорошее соответствие между ними на основе соотношений между рядом взаимосвязанных физических величин, характеризующих движение *C. elegans* в процессе плавания.

В Разделе 4.6 рассмотрены вопросы параллельной реализации и вычислительной производительности программной системы *Sibernetica*. Исследована зависимость скорости расчетов от числа моделируемых частиц, произведено сравнение с другими реализациями алгоритмов SPH и PCI SPH.

Главу 4 завершает Раздел 4.7, посвященный проверке достоверности функционирования модели тела и мышечной системы *C. elegans* на уровне «мышечная система – биомеханика движения», основанной на использовании

экспериментальных данных об активности мышечных клеток *C. elegans* в процессе движения посредством визуализации концентрации ионов Ca^{2+} в них. Видеозапись, на которой у свободно движущейся в естественной среде нематоды визуализирована активность мышечных клеток [Lefebvre et al., 2016], была использована в качестве исходных данных. Для их обработки автором была написана программа, анализирующая каждый кадр видеозаписи, определяющая контур *C. elegans*, положение головы и хвоста, центральную линию и мышечные тяжи, которые затем разбивались на сегменты (с учетом кривизны тела), в каждом из которых вычислялся средний уровень активности. Затем полученные данные были использованы для управления активностью мышечных клеток модели тела *C. elegans* в *Sibernetic*. Это позволило разделить настройку параметров и проверку достоверности и без того сложной многоуровневой модели на два независимых этапа - на уровне тела, управляемого мышечными клетками, и на уровне нервной системы, о моделировании которой пойдет речь в следующей главе.

Глава 5 посвящена анализу проведенных ранее исследований в направлении биологически обоснованного моделирования динамики нейронной активности в нервной системе *C. elegans*. Рассматриваются объекты от структурной организации нервной системы в целом до отдельных нейронов, ионных каналов и ионных токов. **Раздел 5.1** посвящен обзору современных данных об архитектуре нервной системы *C. elegans*. В **разделе 5.2** рассматриваются особенности электрофизиологии нейронов *C. elegans*, использующих довольно типичный набор ионных каналов, за исключением того, что среди них отсутствуют потенциал-зависимые Na^+ каналы, лежащие в основе передачи, кодирования и обработки сигналов посредством потенциалов действия (ПД) в большинстве нервных систем. Таким образом, функции, выполняемые в нервных системах других организмов посредством потенциала действия, у *C. elegans*, по-видимому, осуществляет градуальная деполяризация и электротоническое проведение. Предположительно, ионные каналы *C. elegans* адаптированы для этого необычного режима функционирования [Nickell et al., 2002]. Ключевая роль в электротоническом проведении принадлежит ионам Ca^{2+} , участвующими в генерации тока через возбудимую мембрану нейрона [Goodman et al., 1998]. Нам удалось рассчитать теоретически и реализовать в виде компьютерной модели распространение сигналов по отросткам нейронов *C. elegans* с учетом затухания и задержки сигнала, основываясь на известных данных о результатах электрофизиологического исследования этих объектов (таких, как потенциал покоя нейронов, удельная электрическая емкость и сопротивление клеточной мембраны и др.) [Palyanov et al., 2017]. На основе анализа видеозаписи реверса, упомянутой в Таблице 1, определен временной интервал, в течение которого нервная система

переключается из режима «движение вперед» на режим «движение назад» ≈ 0.2 с [Palyanov, Ratushnyak, 2015].

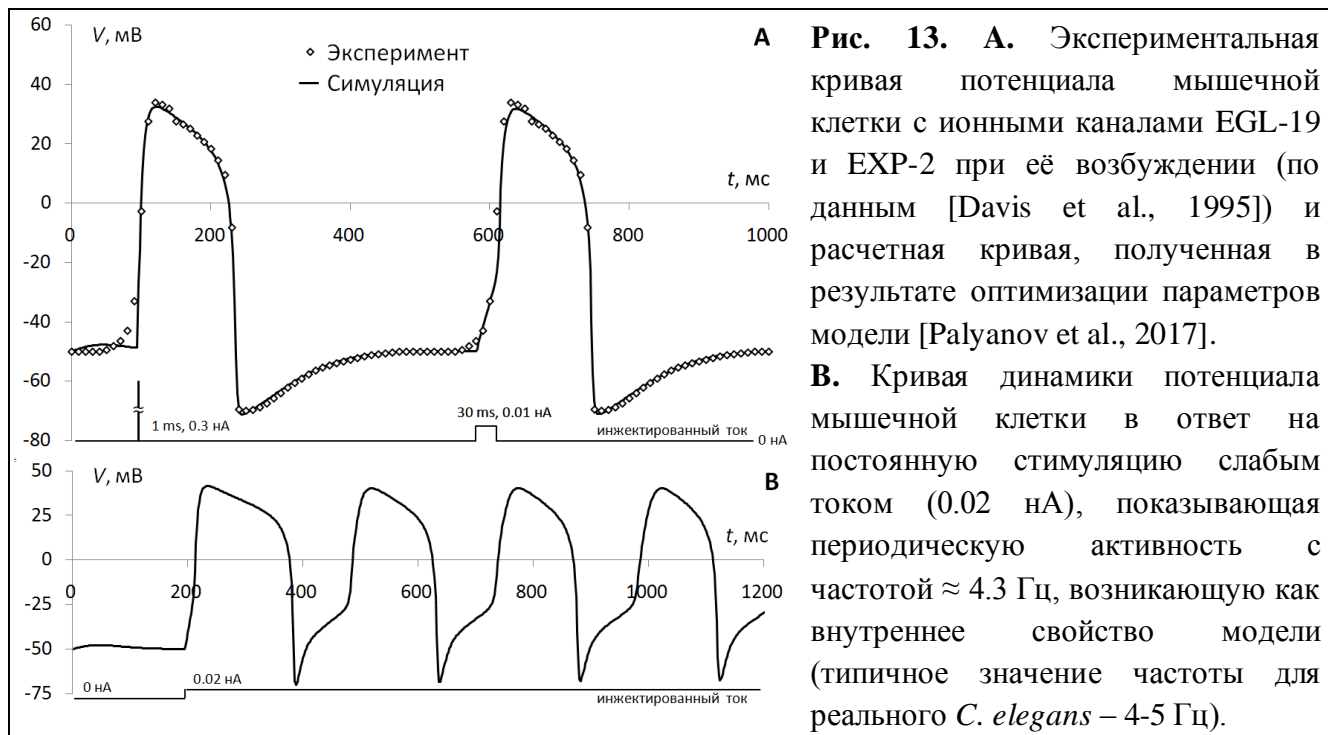
В разделе 5.3 исследуется еще один ключевой вопрос, имеющий прямое отношение к фундаментальным механизмам функционирования нервной системы, а именно – генерация периодических сигналов в ней. У *C. elegans* наблюдается по меньшей мере 3 различных типа периодической мышечной активности, происходящей с различными частотами:

- 1) Синусоидальные движения тела при ползании и плавании в частотном интервале от 0.3 до 2 Гц [Fang-Yen et al., 2010; Shen et al., 2012];
- 2) Сканирующие движения сектора пространства, осуществляемые головным концом, осуществляемые для навигации с учетом градиентов концентраций веществ, сигнализирующих о присутствии пищи или об опасности [Croll, 1975];
- 3) Периодические сокращения глоточной мускулатуры, осуществляемые на частоте от 0.5 до 5 Гц (по другим данным – от 0.7 до 4.4 Гц) в зависимости от сытости организма и концентрации пищи [Scholz et al., 2016];

Что является источником осцилляций - во всех случаях неизвестно. Непонятно даже, вызваны они определенной нейронной активностью или же нет. Глоточная нервно-мышечная система состоит всего из 20 мышечных клеток и 20 нейронов и практически полностью изолирована от остального организма. Для периодических сокращений глоточной мускулатуры было показано, что они продолжаются (с частотами ниже 1 Гц и с потерей координированности) даже если уничтожить с помощью лазера все нейроны глоточной нервной системы [Avery et al., 1989]. Также известно, что при определенных обстоятельствах эта активность может быть остановлена самим организмом - в состоянии "сна" в периоды линьки и стресса в ответ на неблагоприятные условия окружающей среды. С учетом изложенных фактов напрашивается вывод о том, что генерация периодических мышечных сокращений порождается самими мышечными клетками (фоновая активность на низкой частоте), а дополнительное воздействие сигналов от некоторых нейронов (в особенности МС и М4) ее усиливает и регулирует. Как показал анализ литературы по данной теме, в некоторых гладких мышцах потенциалы действия действительно генерируются спонтанно, при отсутствии внешних стимулов, включая клетки глоточной мышечной системы [Rogers et al., 2001] и мышцы, управляющие движением тела [Liu et al., 2010].

Раздел 5.4 посвящен воспроизведению механизма генерации периодических сигналов мышечной клеткой глоточной системы посредством компьютерного моделирования с учетом её геометрических и электрофизиологических параметров, а также основных ионных каналов (Ca^{2+} EGL-19 L-типа и K^{+} EXP-2 Kv-типа) и ионных токов (Ca^{2+} , K^{+}) [Palyanov et al., 2016; Palyanov et al., 2017] (Рис. 13) с использованием программного пакета NEURON [Carnevale and Hines,

2006]. NEURON и Sibernetic могут работать в паре и обмениваться данными в ходе симуляции благодаря интерфейсу обмена данными, реализованному на Python – это открывает возможность одновременной симуляции движения тела, вызываемого мышечной активностью, и работы симулятора нервной системы, которая этой активностью управляет [Lung, Larson, Palyanov et al., 2017].



Таким образом, были созданы базовые модели нейрона и мышечной клетки с учетом их особенностей в организме *C. elegans*, вплоть до специфических ионных каналов. Они могут быть использованы для конструирования сетей из нейронов и мышечных клеток, воспроизводящих архитектуру нервной системы реального *C. elegans*, что уже запланировано в рамках работы по гранту РФФИ 18-07-00903 «Компьютерное моделирование и валидация механизмов генерации периодических сигналов и управления мышцами тела в нервной системе *C. elegans*» (2018-2020 г.).

Глава 6 посвящена развитию нового «гидродинамического» подхода к анализу процесса формирования белковой структуры [Chekrmarev, Palyanov, Karplus, 2008; Chekrmarev, Karplus, 2013; Andryushchenko, Chekrmarev, 2016], который также может быть применен для анализа конформационных изменений в ходе функционирования белка. Ионные каналы, представляющие собой сложные трехмерные структуры, образованные одной или несколькими белковыми молекулами, способны перестраивать свою структуру при изменении физико-химических параметров локального окружения (например, потенциала на мембране клетки) и тем самым открывать или закрывать канал для прохождения ионов. Эти механизмы обеспечивают электрофизиологическую активность

нервных клеток и возможность обмениваться друг с другом электрохимическими сигналами. У *C. elegans* насчитывается несколько сотен различных ионных каналов, и не исключено, что для совпадения работы реальной и виртуальной нервной системы рано или поздно придется включить в модель каналы каждого типа, поэтому в перспективе предлагаемый подход может оказаться полезным в контексте решения данной проблемы. Его основным преимуществом является возможность выявлять скрытые процессы, не видимые в рамках стандартного анализа на основе рассмотрения поверхности свободной энергии [Palyanov, Chekmarev, 2016], что, в свою очередь, может существенно помочь в построении кинетической схемы переходов белка между его различными состояниями.

Моделирование работы ионных каналов методом полноатомной молекулярной динамики на данном уровне развития вычислительных технологий не представляется возможным ввиду колоссальной вычислительной сложности данной задачи (перспективы рассматривались, в том числе, в дипломной работе Малышевой А.Д. «Программные средства и структуры данных для моделирования работы ионного канала методом молекулярной динамики», выполненной в 2015-2016 гг. под руководством А.Ю. Пальянова). Для моделирования структурных перестроек белковых молекул в процессе их функционирования и для моделирования сборки белковой структуры после синтеза белковой цепи могут быть использованы, хотя и в ущерб точности, упрощенные методы, в том числе дискретная молекулярная динамика (ДМД). Однако, недостаточно просто получить несколько десятков траекторий изменения структуры белка в процессе самосборки, происходящей посредством достижения минимума на многомерной поверхности свободной энергии белка, определяемой геометрией и физико-химическими свойствами боковых групп белковой цепи – необходим эффективный анализ полученных данных. В работе использовалась собственная программная реализация ДМД на C++, основанная на алгоритме, описанном в работе [Zhou, Karplus, 1997]. Дополнительно в ней реализован функционал, связанный с «гидродинамическим» подходом.

В рамках «гидродинамического» подхода процесс формирования белковой структуры представляется в виде «течения» от начального развернутого состояния до стабильного нативного состояния, в котором белок в дальнейшем функционирует в организме. Исследование проведено на примере известного белка убиквитина, состоящего из 76 аминокислотных остатков (Рис. 14). Поверхность свободной энергии белка, полученная в рамках традиционного подхода, показана на Рис. 15, а расширенная картина, полученная при использовании гидродинамического подхода, приведена на Рис. 16.

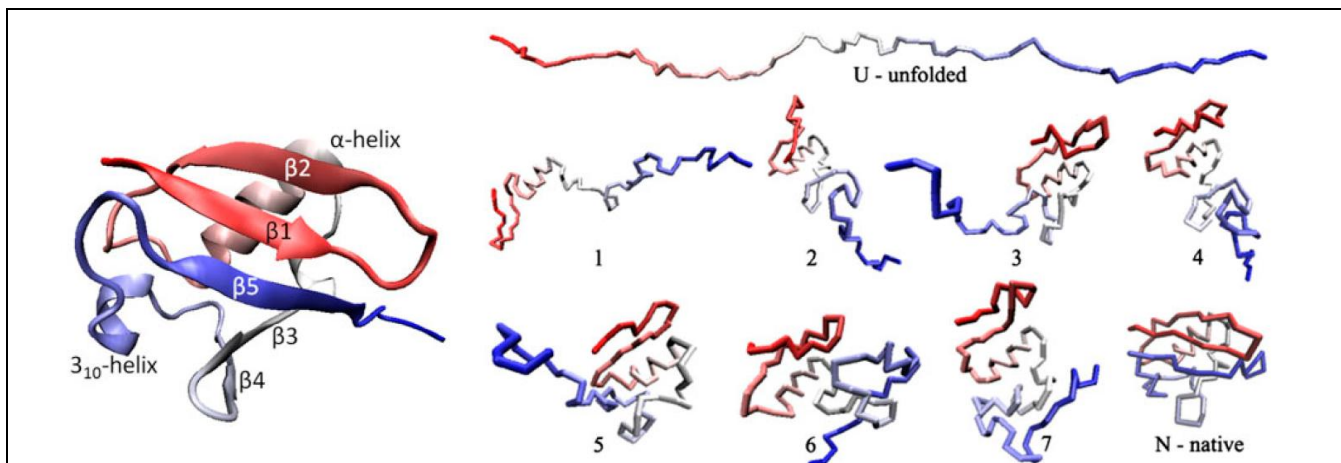


Рис. 14. Нативная структура белка убиквитина (слева) и характерные структуры на пути от развернутого состояния к нативному (1-7, N).

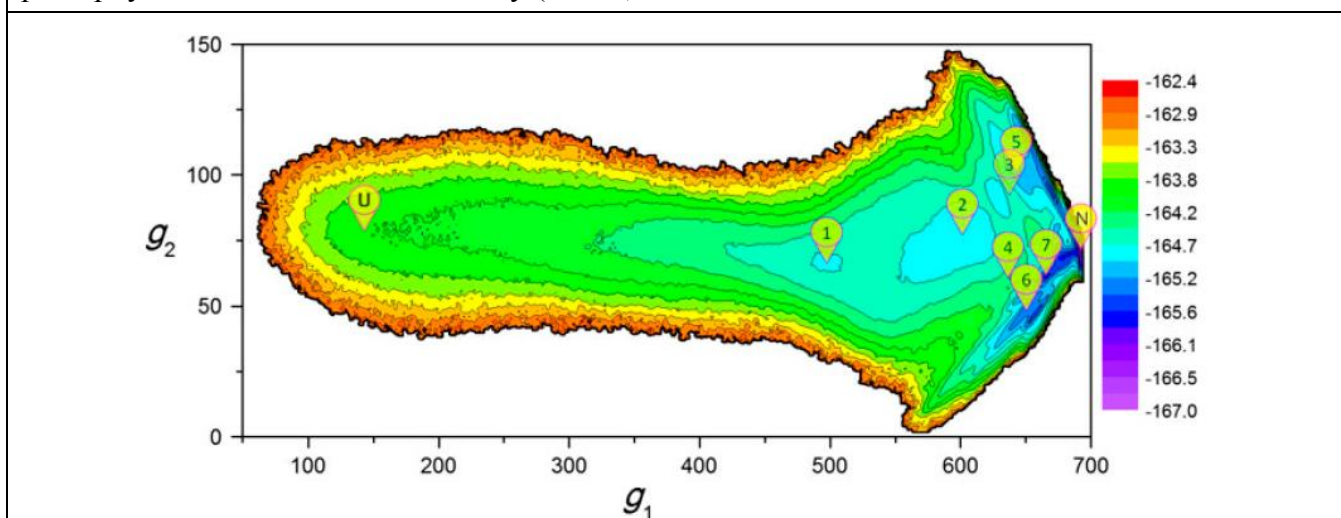


Рис. 15. Поверхность свободной энергии (ПСЭ) как функция коллективных переменных g_1 и g_2 (полученных методом анализа главных компонент). Метка «U» соответствует области развернутых состояний белка («unfolded»), N – нативному состоянию, 1-7 – структурам, характерным для данных областей ПСЭ, представленным на Рис. 8.

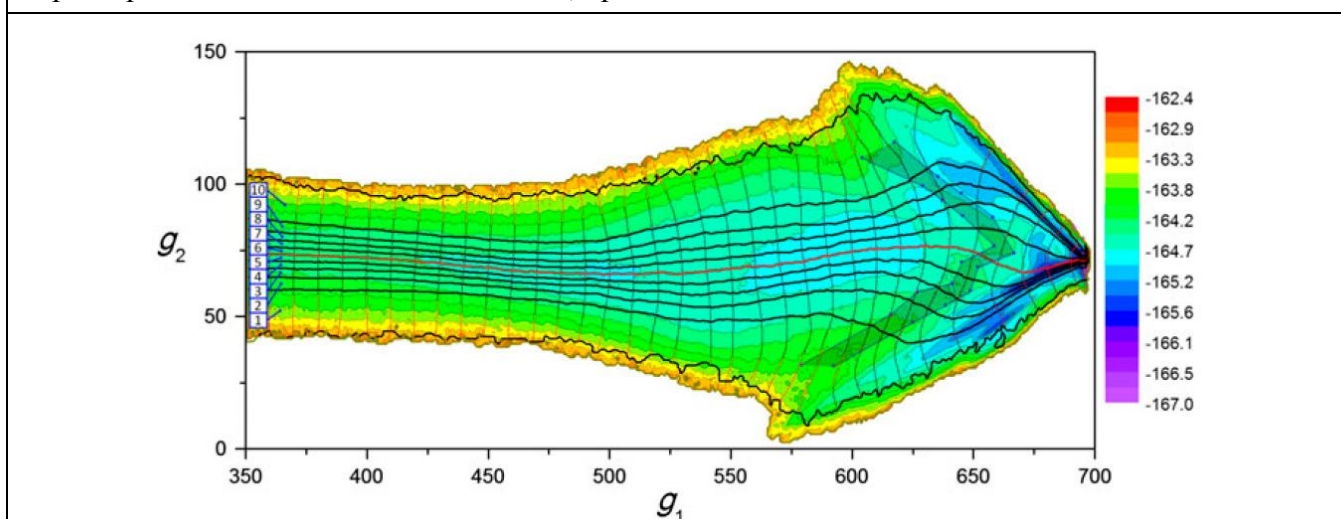


Рис. 16. Линии тока и ортогональные им линии, наложенные на фрагмент ПСЭ, представленной на Рис. 9. Полупрозрачная область ближе к правому краю построена на основе интервалов, в пределах которых отклонение от максимальной ширины каждой из трубок тока не превышает 5%.

Рассчитанные траектории формирования структуры белка использовались для вычисления потоков вероятности $\mathbf{j}(\mathbf{g})$. В точке \mathbf{g} g_1 -компонента потока определяется следующим образом:

$$j_{g_1}(\mathbf{g}) = \left[\sum_{\substack{g_1'' - g_1' > 0 \\ g_1'', g_1''(\mathbf{g} \subset \mathbf{g}^*)}} n(\mathbf{g}'', \mathbf{g}') - \sum_{\substack{g_1'' - g_1' < 0 \\ g_1'', g_1''(\mathbf{g} \subset \mathbf{g}^*)}} n(\mathbf{g}'', \mathbf{g}') \right] / (M \bar{t}_f \Delta g_2),$$

где M – число рассматриваемых смоделированных траекторий, \bar{t}_f – среднее время сворачивания белка в нативное состояние, $n(\mathbf{g}'', \mathbf{g}')$ – число переходов из состояния \mathbf{g}' в \mathbf{g}'' , и $\mathbf{g} \subset \mathbf{g}^*$ – символическое обозначение условия, что переходы, включенные в сумму, могут быть соединены прямой линией, соединяющей точки \mathbf{g}' и \mathbf{g}'' , которая пересекает линию $g_1 = \text{const}$ внутри интервала длиной Δg_2 с центром в точке \mathbf{g} . Похожим образом определяется g_2 компонента $\mathbf{j}(\mathbf{g})$, за исключением того, что в этом случае выбираются переходы, пересекающие линию $g_2 = \text{const}$. Расчеты были произведены на решетке с дискретизацией $\Delta g_1 = \Delta g_2 = 1$.

Знание поля вероятностей переходов обеспечивает возможность ввести линии тока для потока состояний белка, идущего от области развернутых состояний к нативному, т.е. линий, перпендикулярных к локальным направлениям потоков $\mathbf{j}(\mathbf{g})$. Для этой цели использовалась функция потока, которая аналогична таковой в гидродинамике [Ландау и Лифшиц, 1987]. Для потока, направленного в основном вдоль оси g_1 (Рис. 16), функция потока $\Psi(g_1, g_2)$ вычисляется как:

$$\Psi(g_1, g_2) = \int_0^{y=g_2} j_{g_1}(g_1, y) dy$$

Тогда линия тока потока определяется уравнением $\Psi(g_1, g_2) = \text{const}$, а две линии тока - $\Psi(g_1, g_2) = C_1$ и $\Psi(g_1, g_2) = C_2$ ($C_1 > C_2$) – задают трубку тока, которая содержит долю $(C_2 - C_1)/G$ всего потока G .

На Рис. 16 видно, что двумерная поверхность свободной энергии имеет максимальную ширину в области переходных состояний, в то время как плотности тока вероятности в этой же области, наоборот, минимальны. Расширение ПСЭ в области переходных состояний может быть связано с увеличением числа различных состояний белка в данной области. Расчет распределения среднеквадратичного отклонения расстояний между соответствующими парами мономеров во множестве структур, соответствующих каждой ячейке ПСЭ, дополнительно свидетельствует в пользу данного предположения. Эффект минимизации потоков вероятности в области переходных состояний, как ожидается, должен наиболее явно проявиться в случае одностадийной кинетики процесса формирования нативной структуры, когда область развернутых и полукompактных состояний отделена от области околонативных состояний барьером свободной энергии, соответствующим ансамблю переходных состояний.

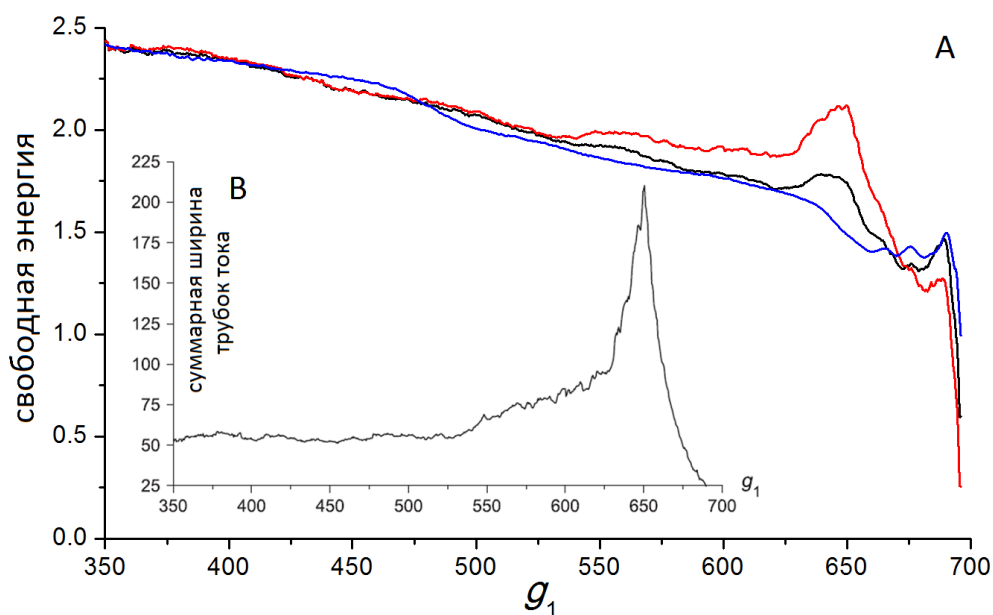


Рис. 17. А. Одномерные профили свободной энергии $F(g_1)$. Черная линия соответствует профилю, определяемому как $F(g_1) = -T \ln P(g_1)$, где $P(g_1) = \int p(g_1, g_2) dg_2$, а красная – профилю $F(g_1) = -T \ln [P(g_1)/W(g_1)]$. Профили вероятности $p(g_1, g_2)$ в трубках тока были выровнены вдоль оси g_1 так, чтобы их минимальные значения соответствовали одному и тому же значению g_1 (переходному состоянию). Синяя кривая - профиль свободной энергии $F(g_1) = -T \ln P(g_1)$, но в отличие от красной, $P(g_1)$ для неё была получена прямым суммированием $p(g_1, g_2)$ вдоль координаты g_2 (без выравнивания профилей вероятностей вдоль трубок тока). **В.** Суммарная ширина трубок тока $W(g_1)$.

Одно из существенных следствий из полученных результатов состоит в том, что барьер свободной энергии на ПСЭ (Рис. 17) может уменьшаться или даже полностью исчезать в случае, если свободная энергия проецируется на одну ось (координату реакции), поскольку низкая заселенность переходных состояний может быть компенсирована большим числом различных состояний по сравнению с соседними областями. Поэтому для более корректного профиля свободной энергии вдоль координаты реакции представляется целесообразным использовать именно гидродинамический подход.

Заключение

Работа основана на комплексном подходе к пониманию основных принципов устройства живых систем, согласующемся с представлением Н. Винера: «кибернетика в современном понимании – как наука об общих закономерностях процессов управления и передачи информации в машинах, живых организмах и обществе». Исследование сформировало взаимоувязанную группу подходов, моделей и алгоритмов, в совокупности достаточную для изучения многих тонких эффектов, лежащих в основе функционирования организма *C. elegans*. На их основе был создан уникальный программный комплекс с открытым исходным кодом, включая средства моделирования, визуализации и анализа изучаемых объектов, приближающий научное сообщество к созданию первого виртуального организма и обладающий значительным потенциалом для дальнейшего развития.

Итогом данной работы, помимо совокупности представленных результатов, является то, что исследования в области компьютерного моделирования и разработки виртуального организма на основе *C. elegans*, ранее не проводившиеся в России, были успешно начаты, динамично развивались и к настоящему времени достигли мирового уровня, внося заметный вклад в данное направление науки.

В будущем развитие и применение научных результатов, полученных в рамках диссертационной работы, планируется в следующих направлениях:

- Усовершенствование моделей с учетом новых экспериментальных данных.
- Оснащение виртуального организма *C. elegans* более широким спектром сенсоров (хемо-, термо-, фоторецепторы – как и у реального организма).
- Поиск взаимосвязей между структурой нервной системы и функциями её отдельных контуров посредством анализа их функционирования в модели.
- Использование созданного программного комплекса в образовательных целях – как наглядное пособие по механизмам работы нервной системы.
- В более далекой перспективе – использование всех представленных в диссертации разработок для моделирования более сложных организмов.

Публикации в рецензируемых изданиях, индексируемых в Web of Science, Scopus и в журналах из списка ВАК:

1. **A. Palyanov**, S. Khayrulin, S.D. Larson. Three-dimensional realistic model of the *Caenorhabditis elegans* body and muscle cells in liquid and gel environments for behavioral analysis // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2018, 373: 20170376. (Web of Science, 1-й квартиль (Q1), импакт-фактор (IF) = 5.67; Scopus).
2. G.P. Sarma, C.W. Lee, T. Portegys, V. Ghayoomie, T. Jacobs, B. Alicea, M. Cantarelli, M. Currie, R.C. Gerkin, S. Gingell, P. Gleeson, R. Gordon, R.M. Hasani, G. Idili G., S. Khayrulin, D. Lung, **A. Palyanov**, M. Watts, S.D. Larson. OpenWorm: overview and recent advances in integrative biological simulation of *Caenorhabditis elegans*. // Phil. Trans. of the Royal Society B: Biological Sciences, 2018, 373: 20170382. (Web of Science, Q1, IF = 5.67; Scopus)
3. **A.Yu. Palyanov**, S.F. Chekmarev. Hydrodynamic description of protein folding: the decrease of the probability fluxes as an indicator of transition states in two-state folders // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2017, 35 (14): 3152-60. (Web of Science, Q2, IF = 2.3; Scopus).
4. **A. Palyanov**, S. Khayrulin, S. Larson. Application of smoothed particle hydrodynamics to modeling mechanisms of biological tissue, Advances in Engineering Software, 2016, 98:1-11 (Web of Science, Q1, IF = 1.4; Scopus).
5. **А.Ю. Пальянов**, С.С. Хайрулин. Sibernetic: программный комплекс на базе алгоритма PCI SPH, ориентированный на задачи моделирования в области биомеханики живых систем // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, 18 (4/3): 1239-1247. Версия на английском языке: **A.Yu. Palyanov**, S.S. Khayrulin. Sibernetic: A Software Complex Based on the PCI SPH Algorithm Aimed at Simulation Problems in Biomechanics // Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2015, 5(6): 635–641. (Scopus; ВАК)
6. B. Szigeti, P. Gleeson, M. Vella, S. Khayrulin, **A. Palyanov**, J. Hokanson, M. Currie, M. Cantarelli, G. Idili, S. Larson. OpenWorm: an open-science approach to modeling *C. elegans*. Frontiers in Computational Neuroscience, 2014, 8: 1-7. (Web of Science, Q2, IF = 2.2; Scopus).

7. **А.Ю. Пальянов**, А.С. Ратушняк. Об особенностях распространения сигналов в нервной системе *C. elegans* // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, 18(4/3): 1248-1258. Версия на английском языке: **А.Yu. Palyanov**, A.S. Ratushnyak. Some Details of Signal Propagation in the Nervous System of *C. elegans* // Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2015, 5(6): 642–649. (Scopus; BAK).
8. G. St Laurent III, D. Shtokalo, M. Heydarian, **A. Palyanov**, D. Babiy, J. Zhou, A. Kumar, S. Urcuqui-Inchima. Insights from the HuR-interacting transcriptome: ncRNAs, ubiquitin pathways, and patterns of secondary structure dependent RNA interactions // Molecular Genetics and Genomics, 2012, 287(11-12):867-79. (Web of Science, Q3, IF = 2.6; Scopus).
9. **A. Palyanov**, S. Khayrulin, S. Larson and A. Dibert. Towards a virtual *C. elegans*: A framework for simulation and visualization of the neuromuscular system in a 3D physical environment. // In Silico Biology, 2011, 11(3): 137-147 (Scopus).
10. S.F. Chekmarev, **A.Yu. Palyanov**, M. Karplus. Hydrodynamic description of protein folding // Physical Review Letters, 2008, 100(1): 018107. (Web of Science, Q1, IF = 7.2, Scopus).
11. **A.Yu. Palyanov**, S.F. Chekmarev, S.V. Krivov, M. Karplus. A lattice protein with an amyloidogenic latent state: stability and folding kinetics // Journal of Physical Chemistry B: Biophysical Chemistry, Biomaterials, Liquids, and Soft Matter. 2007. T. 111. № 10. С. 2675-2687. (Web of Science, Q2, IF = 4.44, Scopus).
12. A.V. Kochetov, **A. Palyanov**, I.I. Titov, D. Grigorovich, N.A. Kolchanov, A. Sarai. AUG-hairpin: prediction of a downstream secondary structure influencing the recognition of a translation start site // BMC Bioinformatics, 2007, 8: 318. (Web of Science, Q1, IF = 4.42; Scopus).
13. **A.Yu. Pal'yanov**, I.I. Titov, S.F. Chekmarev, M. Karplus. Simulation of protein misfolding using a lattice model // Biophysics, 2006, 51(Suppl 1): 44-48. (Scopus, BAK).
14. Titov I.I., **Palyanov A.Yu.** How a protein knots: folding simulation of lattice proteins // Biophysics, 2003, 48 (Suppl. 1): 133-140. (Scopus, BAK).

Другие публикации по теме диссертации:

15. **А.Ю. Пальянов**. An algorithm for tracking *C. elegans* body movement and muscular activity in Ca²⁺ dynamics video for tuning and validation of its locomotion simulation // Proc. of the 3rd International symposium «Mathematical Modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology», 2018, с. 54. (приглашенный устный доклад).
16. D. Lung, S. Larson, A. Palyanov, S. Khayrulin, P. Gleeson, M.Zimmer, R. Grosu and R.M. Hasani. A Simplified Cell Network for the Simulation of *C. elegans*' Forward Crawling // Proc. NIPS Workshop on Worm's Neural Information Processing, Long Beach, CA, USA, 2017 (5 стр.).
17. **A. Palyanov**, S. Khayrulin. Realistic 3D simulation of *C. elegans* swimming and crawling with Siberetic environment. // Proc. of the 2nd International Conference «Mathematical modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology», 2016, с. 79. (приглашенный пленарный доклад).
18. **A. Palyanov**, Kh. Samoilova, N. Palyanova. Towards a neurobiologically reasonable *C. elegans* nervous system simulation: neuron, muscle and signal propagation modeling // Symposium «Cognitive Sciences, Genomics and Bioinformatics», 2016, с. 221. (устный доклад).
19. S. Khayrulin, N. Serdtseva, **A. Palyanov**. A software tool for visualization and control of biological neural networks activity based on the NEURON simulation environment // Proc. of the 2nd International Conference “Mathematical modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology, 2016, с. 56. (устный доклад)

20. **Пальянов А.Ю.**, Хайрулин С.С. Моделирование паттернов движения *C. elegans* в программной среде Sibernetic // Тезисы международной конференции «Актуальные проблемы вычислительной и прикладной математики», 2015, с. 176-177.
21. P. Gleeson, M. Cantarelli, M. Currie, J. Hokanson, G. Idili, S. Khayrulin, **A. Palyanov**, B. Szigeti, S. Larson. The OpenWorm Project: currently available resources and future plans // Proc. of the 24th Annual Computational Neuroscience Meeting (CNS-2015), Prague, Czech Republic, BMC Neuroscience, 2015, 16 (Suppl. 1): P141.
22. **Palyanov A.**, Khayrulin S. Sibernetic: novel approach to realistic modeling of invertebrates biomechanics. // Proc. of the International Conference «Mathematical Modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology», 2014, с. 63.
23. Vella M., **Palyanov A.**, Gleeson P., Khayrulin S. Integration of predictive-corrective incompressible SPH and Hodgkin-Huxley based models in the OpenWorm *in silico* model of *C. elegans* // Proc. of the 22-nd Annual Computational Neuroscience Meeting CNS-2013, Paris, France, BMC Neuroscience, 2013, 14(Suppl. 1): P209.
24. **А.Ю. Пальянов**, Н.В. Пальянова, С.С. Хайрулин. О проблемах моделирования нейронных сетей живых организмов // Вестник НГУ, 2012, 10(3): 46-57.
25. А.В. Дёмин, **А.Ю. Пальянов**. Обучающаяся система управления локомоцией для 3D модели нематоды *C. elegans* // Нейроинформатика, 2012, 6(1): 42-49.
26. T. Busbice, P. Gleeson, S. Khayrulin, M. Cantarelli, A. Dibert, D. Idili, **A. Palyanov**, S. Larson. The NeuroML *C. elegans* connectome // Proc. 5th INCF Congress of Neuroinformatics, Munich, Germany, Frontiers in Neuroinformatics, 2012, 17: 82-83.
27. Демин А.В., **Пальянов А.Ю.** Обучение локомоции 3D модели нематоды *C. elegans* // Материалы 3-й международной конференции «Автоматизация управления и интеллектуальные системы и среды», 2012, с. 34-38.
28. **Пальянов А.Ю.**, Хайрулин С.С. О перспективах создания первого виртуального организма – биологически обоснованной компьютерной модели нематоды *C. elegans*, включающей нервную систему // Тезисы международной конференции «Современные проблемы математики, информатики и биоинформатики», Новосибирск, 2011, с. 56-57.
29. **А.Ю. Пальянов**, С.С. Хайрулин, А.А. Диберт. На пути к виртуальному организму под управлением цифровой копии его нервной системы: результаты и перспективы для нематоды *C. elegans* // Перспективы систем информатики, рабочий семинар «Наукоемкое программное обеспечение», 2011, с. 180-186.
30. G. Idili, M. Cantarelli, M. Buibas, T. Busbice, J. Coggan, C. Grove, S. Khayrulin, **A. Palyanov** and S. Larson. Managing Complexity in Multi-Algorithm, Multi-Scale Biological Simulations: An Integrated Software Engineering and Neuroinformatics Approach // 4th INCF Congress of Neuroinformatics, Boston, United States, 2011, C. 288-289.
31. **A.Yu. Palyanov**, S.V. Krivov, I.I. Titov, M. Karplus, S.F. Chekmarev. Protein folding and misfolding: a bifurcation study of a lattice model // Proc. Intl. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, 2004, с. 326-329. (Web of Science)
32. **A.Yu. Palyanov**, I.I. Titov. Structural memory of a lattice protein // Proc. Intl. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, 2004, с. 330-332. (Web of Science)
33. I.I. Titov, D. Vorobiev, **A. Palyanov**. A Toolbox for analysis of RNA secondary structure based on genetic algorithm // Proc. Intl. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, 2004, с. 105-110. (Web of Science)
34. I.I. Titov, **A.Yu. Palyanov**. A genetic algorithm for the inverse folding problem of RNA // Proc. Intl. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, 2002, с. 193-202. (Web of Science).