

Marcin RADOM¹, Jakub OLSZAK¹, Piotr FORMANOWICZ^{1,2}

¹Instytut Informatyki, Politechnika Poznańska

²Instytut Chemii Bioorganicznej, Polska Akademia Nauk

METODY ANALIZY MODELI SYSTEMÓW BIOLOGICZNYCH OPARTYCH NA CZASOWYCH SIECIACH PETRIEGO*

Streszczenie. Czas jako parametr opisujący działanie systemu biologicznego, a w szczególności poszczególnych jego reakcji, może być reprezentowany w modelu takiego systemu dzięki użyciu czasowych sieci Petriego. Sieci tego typu mogą być badane nie tylko za pomocą metod stosowanych w przypadku sieci klasycznych, ale także przy zastosowaniu analizy pozwalającej wykorzystywać dodatkową informację dotyczącą zależności czasowych zawartą w modelu. W niniejszym artykule przedstawione zostały najważniejsze rodzaje czasowych sieci Petriego, a także metody badania modeli czasowych oparte zarówno na analizie niezmienników sieci w kontekście czasu, jak również na częściowej analizie stanów ustalonych.

METHODS OF AN ANALYSIS OF TIME PETRI NETS BASED MODELS OF BIOLOGICAL SYSTEMS

Summary. Time as a parameter describing the functioning of a biological system, and in particular its basic reactions can be represented in a model of such a system using time Petri nets. Nets of this type can be studied not only by methods developed for the classical Petri nets, but also by the analysis using additional data concerning time dependencies in the model. In this paper the most important types of time Petri nets have been described, with the methods for studying time models based on invariants and steady state analysis.

1. Wstęp

Gwałtowny rozwój nauk biologicznych trwający od lat 90. ubiegłego wieku i towarzyszący mu dynamiczny wzrost ilości danych biologicznych różnego rodzaju, przede wszystkim będący wynikiem stosowania technik wysokoprzepustowych, spowodował, że istotnie zmienił się sposób postrzegania organizmów żywych z punktu widzenia koniecznych do zastosowania wobec nich metod badawczych. Rośnie bowiem przekonanie, że dominujące do niedawna podejście, określane czasami niezbyt fortunnie jako redukcjonistyczne, jest niewystarczające do dogłębnego zrozumienia natury świata żywego. Podejście to polega na szczegółowej analizie elementarnych składników ukła-

*Badania przeprowadzone w ramach realizacji projektu finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji DEC-2012/07/B/ST6/01537.

dów biologicznych przy jednoczesnym przykładaniu mniejszej wagi do ich wzajemnych oddziaływań. Przyniosło ono wiele istotnych odkryć i przyczyniło się do wspomnianego intensywnego rozwoju nauk biologicznych, jednak wiele wskazuje na to, że zbliżamy się do kresu możliwości stwarzanych przez tego rodzaju metody badawcze. Konieczne jest zwrócenie większej uwagi na wzajemne oddziaływania zachodzące między elementarnymi składnikami układów biologicznych. Tworzą one gęstą i złożoną sieć wzajemnych powiązań i wiele wskazuje na to, że od jej struktury zależy wiele zasadniczych własności organizmów żywych. Stąd, zarówno całe organizmy, jak i ich funkcjonalne bloki, takie jak organy, tkanki, komórki itp. powinny być postrzegane jako złożone systemy i badane odpowiednimi dla takich systemów metodami. Zajmuje się tym rozwijająca się od kilkunastu lat dziedzina nauki nazywana biologią systemową. Na jej gruncie podejmowane są próby stosowania metod pochodzących z nauk systemowych do badania zjawisk zachodzących w organizmach żywych. W wielu przypadkach nie jest możliwe bezpośrednio zastosowanie wobec nich metod opracowanych do badania innego rodzaju zjawisk, gdyż systemy biologiczne posiadają swoją specyfikę. Stąd konieczne jest opracowywanie nowych lub dostosowywanie znanych już metod tak, by w większym stopniu odpowiadały naturze systemów biologicznych.

Podstawą analizy systemowej, niezależnie od rodzaju badanego systemu, zawsze jest jego formalny model. Modele takie najczęściej tworzone są w oparciu o równania różniczkowe, co jest uzasadnione przez możliwość do uzyskania dzięki nim precyzyjny opis. Jednakże, w przypadku modelowania systemów biologicznych pojawiają się pewne ograniczenia stosowania równań różniczkowych. Wynikają one m. in. z konieczności określenia precyzyjnych wartości parametrów występujących w tego rodzaju równaniach, a odpowiadających pewnym ilościowym cechom modelowanego systemu. W przypadku systemów biologicznych określenie wartości tych cech (parametrów) jest często bardzo trudne, a w wielu przypadkach praktycznie niemożliwe. Stąd, poszukiwane są inne metody modelowania, a wśród nich te, które oparte są na różnego rodzaju grafach lub zbliżonych do nich obiektach matematycznych wydają się być szczególnie obiecujące. Grafy bowiem pozwalają w naturalny sposób odwzorować strukturę zależności występujących w modelowanym systemie, ich intuicyjna graficzna reprezentacja ułatwia zrozumienie tych zależności, a dostępne metody formalnej analizy ich własności umożliwiają precyzyjne badanie skonstruowanych w oparciu o nie modeli. Sieci Petriego [6, 5] choć nie są grafami, mają jednak strukturę skierowanego grafu dwudzielnego, a modele budowane za ich pomocą posiadają wszystkie zalety modeli grafowych, a ponadto umożliwiają opisywanie dynamiki systemu za pomocą tokenów, których przepływ przez sieć odpowiada przepływowi przez modelowany system informacji, substancji itp. Stąd sieci te budzą w ostatnich latach rosnące zainteresowanie osób zajmujących się modelowaniem systemów biologicznych.

Modele zbudowane w oparciu o klasyczne sieci Petriego są modelami jakościowymi, co oznacza, że opisują one przede wszystkim strukturę systemu. Wydawać się to może istotnym ograniczeniem, jednakże w przypadku systemów biologicznych struktura w dużym stopniu określa ich funkcje. Oznacza to, że na podstawie analizy tego rodzaju modeli można w wielu przypadkach odkrywać istotne własności badanego systemu. Ponadto, istnieje wiele rozszerzeń klasycznych sieci Petriego, które umożliwiają zawarcie w tworzonych za ich pomocą modelach różnego rodzaju informacji ilościowych, jeżeli są one dostępne. Zwiększa to oczywiście precyzję takich modeli i pozwala na dokład-

niejsze badanie własności opisywanych za ich pomocą systemów. Wśród rozszerzeń sieci Petriego są sieci czasowe (istnieje ich wiele odmian), które pozwalają opisywać czasy trwania procesów oraz zależności czasowe występujące między nimi. Informacji tego rodzaju nie można zawrzeć w modelach tworzonych w oparciu o klasyczne sieci Petriego (tzn. w klasycznych sieciach Petriego czas nie występuje), a mogą one być przyczyną istotnych własności modelowanych systemów. A zatem sieci czasowe istotnie zwiększają możliwości zastosowania teorii sieci Petriego do badania systemów biologicznych. W niniejszej pracy krótko przedstawione zostaną rodzaje czasowych sieci Petriego oraz wybrane metody analizy opartych na nich modeli systemów biologicznych. Układ pracy jest następujący. W rozdziale drugim przedstawione są podstawowe pojęcia związane z klasycznymi sieciami Petriego oraz definicje sieci czasowych. W rozdziale trzecim omówione zostały metody analizy sieci czasowych oparte na niezmiennikach, metody modyfikacji parametrów czasowych oraz metody analizy stanu ustalonego. Praca kończy się krótkim podsumowaniem zawartym w rozdziale czwartym.

2. Klasyczne i czasowe sieci Petriego

Zanim przedstawione zostaną niezbędne definicje dla odpowiednich sieci czasowych, należy rozpocząć od zdefiniowania klasycznej sieci Petriego jako bazy dla dalszych rozważań. Następnie, w minimalnym lecz niezbędnym zakresie, wprowadzone zostaną najważniejsze pojęcia związane z analizą sieci klasycznych. O wiele bardziej szczegółowe definicje i zagadnienia można odnaleźć m. in. w [5].

2.1. Klasyczne sieci Petriego

Klasyczna sieć Petriego dana jest poniższą Definicją 1.:

Definicja 1. *Sieć Petriego* [2]

Sieć Petriego jest zbiorem $N = \{P, T, f, m_0\}$, gdzie:

P oraz T to skończone, niepuste i rozłączne zbiory odpowiednio miejsc i tranzycji,

$f : ((P \times T) \cup (T \times P)) \rightarrow \mathbb{N}$ definiuje zbiór łuków, których wagi mają wartości całkowite nieujemne,

$m_0 : P \rightarrow \mathbb{N}$ określa początkowy stan sieci.

Strukturą sieci Petriego jest dwudzielny graf skierowany, w którym występują połączone łukami miejsca i tranzycje, miejsca zaś mogą przechowywać *tokeny*. W modelowaniu procesów biologicznych miejsca najczęściej reprezentują substraty i produkty, choć mogą także przedstawiać pewne stany systemu. Tranzycje są najczęściej odpowiednikami elementarnych lub bardziej złożonych reakcji chemicznych. Liczba tokenów w danym miejscu oznacza pewną liczbę jednostek danego składnika (np. substratu, produktu) lub istnienie lub nie pewnego stanu mającego wpływ na modelowany proces. Zmiany w rozkładzie tokenów w miejscach sieci regulowane są poprzez zasadę aktywacji i uruchomienia tranzycji, a rozkład tokenów w danej chwili w miejscach sieci nazywamy *stanem sieci*. Dana tranzycja jest aktywna, jeśli liczba tokenów we wszystkich jej miejscach wejściowych (tj. z łukami skierowanymi do tej tranzycji) jest równa lub większa niż odpowiednie wagi tychże łuków. Tranzycja aktywna może (choć nie musi) zostać uruchomiana. Uruchomienie tranzycji oznacza, że następuje zmiana rozkładu tokenów - z jej miejsc wejściowych pobierana jest taka liczba tokenów, jaką określają wagi łuków

łączące te miejsca z daną tranzycją, a we wszystkich miejscach wyjściowych, tj. takich, do których są skierowane łuki wychodzące z danej tranzycji pojawiają nowe tokeny, których liczba jest równa wagom łuków łączących tranzycję z tymi miejscami [5].

Stan początkowy sieci jest wektorem liczb tokenów znajdujących się w poszczególnych miejscach sieci zanim uruchomiona zostanie jakakolwiek tranzycja. Uruchomienie tranzycji zmienia stan sieci poprzez redystrybucję tokenów w różnych miejscach. *Przestrzeń stanów* jest zbiorem wszystkich osiągalnych stanów sieci Petriego. Przestrzeń stanów lub jej wybrany fragment przedstawiane są często w formie grafu stanów, gdzie wierzchołki to stany sieci, a łuki oznaczają przejścia między stanami spowodowane uruchamianiem tranzycji. Analiza przestrzeni stanów sieci Petriego często ma charakter przybliżony, co wynika z olbrzymiej, lub wręcz nieskończonej wielkości tej przestrzeni.

Sieć Petriego może być reprezentowana przez macierz incydencji [5]. W takiej macierzy $C = [c_{ij}]_{n \times m}$ dla sieci Petriego posiadającej n miejsc i m tranzycji, każda komórka $c_{i,j}$ określa zmianę liczby tokenów w miejscu p_i w wyniku uruchomienia tranzycji t_j . t -niezmiennik jest nieujemnym wektorem $x \in \mathbb{N}^m$ spełniającym równanie $C \cdot x = 0$. *Wsparciem* t -niezmiennika x nazywany jest podzbiór zbioru tranzycji sieci, dla których odpowiednie pozycje w wektorze x są liczbami dodatnimi. Uruchomienie wszystkich takich tranzycji odpowiednią liczbę razy (tj. określoną przez niezerową wartość w t -niezmienniku reprezentującą daną tranzycję) nie zmienia stanu sieci. Sieć jest *pokryta przez t -niezmienniki*, jeżeli każda tranzycja należy do wsparcia przynajmniej jednego t -niezmiennika. W sieci będącej modelem systemu biologicznego t -niezmienniki odpowiadają więc pewnym podstawowym procesom biologicznym tego systemu.

2.2. Czasowe sieci Petriego

Czasowe sieci Petriego można zdefiniować na wiele sposobów. Dwa najpopularniejsze rodzaje sieci czasowych to *Time Petri nets* (TPN) oraz *Timed Petri nets* (DPN), różniące się sposobem określania czasu [7]. W Definicji 2. opisana została pierwsza z wymienionych sieci czasowych.

Definicja 2. *Czasowa sieć Petriego TPN* [11]

Czasowa sieć Petriego jest zbiorem $TPN = \{N, I\}$, gdzie:

$N = \{P, T, f, m_0\}$ *jest klasyczną siecią Petriego,*

$I : T \rightarrow \mathbb{Q}^+ \cup \{0\} \times \mathbb{Q}^+ \cup \{0\} \cup \{\infty\}$, *gdzie dla każdej tranzycji $t \in T$, gdy $I(t) = (I_1(t), I_2(t))$, spełniony jest warunek $I_1(t) \leq I_2(t)$.*

W powyższej definicji I nazywane jest funkcją czasową dla N , gdzie $I_1(t)$ określa najwcześniejszy czas uruchomienia tranzycji t , a $I_2(t)$ najpóźniejszy dopuszczalny czas uruchomienia tej tranzycji. Reguła uruchomienia tranzycji dla takiej sieci precyzuje, że od momentu, w którym tranzycja staje się aktywna, jej uruchomienie nastąpi w czasie z takim, że $I_1(t) \leq z \leq I_2(t)$, tj. tranzycja może uruchomić się dopiero po upływie czasu $I_1(t)$ oraz *musi* uruchomić się najpóźniej w czasie $I_2(t)$. Jeśli w dowolnym momencie tranzycja przestanie być aktywna, po jej ponownym aktywowaniu upływ czasu jest liczony od początku. Czas uruchomienia tranzycji pozostaje zerowy, tj. w momencie uruchomienia tokeny produkowane są w sposób natychmiastowy.

Stan sieci czasowej jest odrobinę bardziej skomplikowany niż w przypadku sieci klasycznej, ponieważ musi zawierać dodatkowe informacje czasowe związane z tranzy-

cjami. W obu rodzajach sieci istnieje ten sam wektor o licznosci miejsc sieci, zawierający informację o liczbie tokenów w miejscach w danej chwili. W przypadku sieci czasowej wektor ten jest jednak niewystarczający. Dla sieci czasowej stan jest określony jako para $z = (m, h)$, gdzie $m : P \rightarrow \mathbb{N}$ oraz $h : T \rightarrow \mathbb{R}^+ \cup \{0\} \cup \{\#\}$. m jest wektorem określającym rozkład tokenów w miejscach, h natomiast jest wektorem o licznosci zbioru tranzycji, który każdej tranzycji przyporządkowuje liczbę z zakresu od 0 do $I_2(t)$ w przypadku gdy tranzycja jest aktywna, a symbol $\#$ w przeciwnym razie [11]. Należy tutaj zauważyć, że zmiana stanu sieci czasowej odbywa się nie tylko poprzez uruchomienie tranzycji, ale także w wyniku zmiany wartości liczonego czasu dla poszczególnych tranzycji, co ma odzwierciedlenie w zmianie wartości wektora h .

Drugi rodzaj sieci czasowych pozwala określać czas jaki musi upłynąć, aby tranzycja wyprodukowała tokeny. Sieć taka określona jest Definicją 3.:

Definicja 3. *Czasowa sieć Petriego DPN [11].*

Czasowa sieć Petriego jest zbiorem $DPN = \{N, D\}$, gdzie:

$N = \{P, T, f, m_0\}$ jest klasyczną siecią Petriego,

$D : T \rightarrow \mathbb{Q}^+$.

Funkcja D przypisuje każdej tranzycji t_i wartość opóźnienia d_i , ze zbioru liczb wymiernych dodatnich, która określa czas jaki musi upłynąć, aby uruchomiona tranzycja wyprodukowała tokeny. W przypadku sieci tego typu zmodyfikowana jest lekko zasada uruchamiania tranzycji. Zmiana ta nie wynika z samej definicji, jest jednak powszechnie przyjęta w tego rodzaju sieci czasowej. Przyjmuje się mianowicie, że każda aktywna tranzycja *musi* zostać natychmiast uruchomiona. W takiej sytuacji pobiera ona tokeny ze swoich miejsc wejściowych, jak zostało to opisane dla sieci klasycznej. W tym samym momencie związany z taką tranzycją licznik rozpoczyna odliczanie do czasu określonego dla tej tranzycji przez funkcję D . W momencie, gdy wartość ta zostanie osiągnięta (i tylko wtedy), tranzycja wytwarza tokeny w swoich miejscach wyjściowych. Należy tutaj podkreślić, że przy takim podejściu niemożliwe jest dezaktywowanie uruchomionej tranzycji, tj. zaraz po aktywacji i natychmiastowym uruchomieniu, tokeny z miejsc wejściowych są nieodwracalnie konsumowane. Produkcja nowych tokenów nastąpi dopiero po upływie czasu określonego przez funkcję D .

Istnieją także sieci Petriego łączące elementy obu poprzednich definicji sieci czasowych. Sieci takie definiują przedział czasu dla tranzycji tak jak w Definicji 2., jednak oznacza on czas *produkcji* tokenu w rozumieniu Definicji 3.. Innymi słowy aktywna tranzycja natychmiast jest uruchamiana, pobierając tokeny ze swoich miejsc wejściowych, jednak zanim wyprodukuje ona tokeny musi upłynąć pewien czas określony przedziałem, podobnie jak w sieci TPN [9].

W omówionych do tej pory definicjach czas związany jest bezpośrednio z działaniem poszczególnych tranzycji. Istnieje także osobna klasa sieci czasowych, w których czas dotyczy miejsc. W pracy [1] została przedstawiona sieć Petriego z deterministycznymi interwałami czasowymi dla miejsc, określona Definicją 5.:

Definicja 4. *Sieć Petriego z deterministycznymi interwałami czasowymi dla miejsc.*

Sieć taka jest zbiorem $DITPPN = \{N, F\}$, gdzie:

$N = \{P, T, f, m_0\}$ jest klasyczną siecią Petriego,

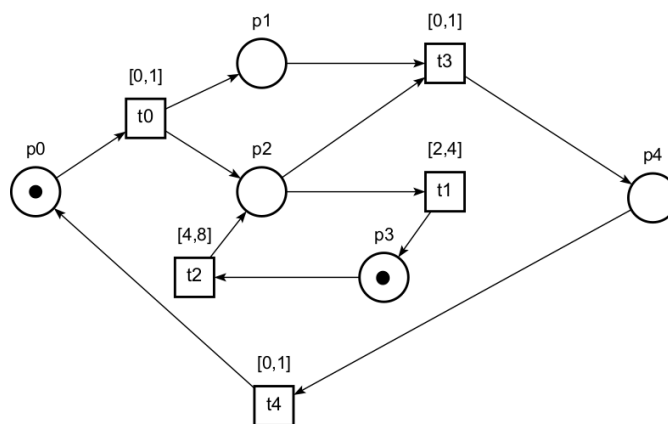
$F : P \rightarrow [\mathbb{R}^+ \cup \{0\}, \mathbb{R}^+ \cup \{0\}]$

Reguła uruchomienia tranzycji w tego typu sieci pozostaje niezmienną, tj. niezależnie od wag łuków tokeny są natychmiastowo zabierane z miejsc wejściowych tranzycji i produkowane w jej miejscach wyjściowych. Należy jednak dokładniej wyjaśnić zasadę aktywacji, gdyż w przypadku takiej sieci jest ona bardziej rozbudowana. Pary wartości czasowych z przedziałów przypisanych miejscom sieci przez funkcję F określają minimalny i maksymalny czas pobytu tokenu w miejscu. Tranzycja jest więc uznawana za aktywną wtedy i tylko wtedy, gdy w jej miejscach wejściowych znajdują się tokeny w liczbie większej lub równej wadze łuku (czyli tak jak dla sieci klasycznej), jednak liczą się tutaj tylko te tokeny, dla których czas pobytu w danym miejscu jest równy lub większy dolnemu zakresowi przedziału czasowego przypisanego do miejsca. Innymi słowy dolny zakres przedziału określa dla każdego tokenu minimalny czas pobytu w miejscu, po osiągnięciu którego token może brać udział w aktywacji tranzycji. Jeżeli z jakiegoś powodu token przebywa w miejscu dłużej niż wynosi górny zakres omawianego przedziału czasu, staje się tak zwanym martwym tokenem, który nie może już być użyty do aktywacji tranzycji. Należy zauważyć, że modelowanie tego typu sieci wymaga narzędzia, które każdy token będzie traktować jako niezależny obiekt, dla którego liczony będzie czas jego przebywania w danym miejscu.

Na zakończenie tego rozdziału omówione zostaną potencjalne zastosowania przedstawionych sieci czasowych do analizy systemów biologicznych. Sieć z Definicji 2 służyć może przede wszystkim do modelowania procesów, w których czas zachodzenia ich elementarnych reakcji jest znany w przybliżeniu i określony pewnym przedziałem czasu. Inaczej sprawa ma się z sieciami z Definicji 3. W takim przypadku możliwe staje się modelowanie procesów, w których każda możliwa reakcja jest jak najszybciej rozpoczynana, jednak czas trwania dla każdej reakcji jest określany niezależnie. Bardzo ciekawe z biologicznego punktu widzenia wydaje się użycie sieci określonych Definicją 5.. W takiej sieci możliwe staje się określanie zarówno czasu, który musi upłynąć, aby wyprodukowane wcześniej cząsteczki (określone przez miejsca sieci) stały się aktywne, a także czasu trwania tychże cząsteczek w systemie. Dzięki temu model taki pozwala odwzorować zjawisko degradacji cząsteczek chemicznych i biologicznych po upływie ich czasu "życia" w systemie biologicznym.

3. Analiza sieci czasowych

Wprowadzenie pojęcia czasu do teorii sieci Petriego umożliwia budowanie bardziej precyzyjnych modeli, w większym stopniu odpowiadających badanemu procesowi. Należy też zaznaczyć, że metody analityczne dostępne dla sieci klasycznych wciąż mają zastosowanie w opisanych sieciach czasowych. Jest to możliwe, ponieważ zasadnicza struktura sieci na której analiza taka bazuje (tj. miejsca, tranzycje oraz łuki z wagami) pozostaje niezmienną w omawianych tutaj sieciach czasowych. Jest to tak zwany *szkielet sieci* [11] odpowiadający klasycznej sieci z Definicji 1. Wciąż więc stosuje się dla sieci czasowych analizę opartą na niezmiennikach oraz zbiorach MCT. Dodatkowe dane dotyczące czasu trwania lub czasu rozpoczęcia reakcji zapewniają możliwość uzyskania dokładniejszego modelu procesu biologicznego [8], dla którego dostępne stają się nowe podejścia analityczne opisane w dalszej części artykułu.



Rys. 1. Czasowa sieć Petriego z dwoma t-niezmiennikami.

3.1. Analiza niezmienników

Istotnym problemem w czasowych sieciach Petriego TPN jest weryfikacja możliwości uruchomienia tranzycji ze wsparcia danego t-niezmiennika. Poszukiwanie t-niezmienników odbywa się analogicznie jak w przypadku sieci klasycznych, jednak sprawdzenie, czy tranzycje ze wsparcia mogą zostać uruchomione określoną liczbę razy, jest mocno utrudnione ze względu na ograniczenia czasowe $I_1(t)$ oraz $I_2(t)$. Istotne również jest to, aby podana weryfikacja była możliwa dla nieograniczonych czasowych sieci Petriego lub bez znajomości jej przestrzeni stanów, ponieważ większość sieci dla modeli systemów biologicznych jest nieograniczona.

Istnieje w literaturze [11] podejście czysto matematyczne, które zostało zastosowane do rozwiązania analizowanego problemu. W ramach naszych badań, zbudowana została prosta sieć TPN (rys. 1), dla której zweryfikowane zostaną możliwości uruchomienia poszczególnych tranzycji. W kolejnym kroku, po rozszerzeniu sieci o dodatkowe tranzycje, pokazana zostanie sytuacja, w której wspomniane podejście jest zawodne oraz alternatywna metoda, którą można wykorzystać do rozwiązania analogicznego problemu.

Na potrzeby analizy wprowadzono we wspomnianej literaturze pojęcie sekwencji w tranzycji wykonywanej w czasie z : $\sigma(z) = z_0 t_{i_1} z_1 \dots z_{w-1} t_{i_w} z_w$. Za pomocą zmiennej z_j dla $j = 1, \dots, w - 1$ oznaczono czas, który upłynął pomiędzy uruchomieniem tranzycji t_{i_j} oraz tranzycji $t_{i_{j+1}}$, z_0 oznacza czas od aktywacji tranzycji t_{i_1} do jej uruchomienia, z_w oznacza czas po uruchomieniu ostatniej tranzycji w sekwencji, tj. t_{i_w} . Dodatkowo dla każdej sekwencji określono zbiór ograniczeń czasowych $B_{\sigma(z)}$, zawierający nierówności opisujące ograniczenia dla każdej zmiennej z_j ($j = 0, \dots, w$) w ramach $\sigma(z)$. Ograniczenia te wynikają z funkcji czasowych $I(t_i)$ (Def.2.) powiązanych z każdą tranzycją sieci czasowej TPN. Budując sekwencję na podstawie wsparcia badanego t-niezmiennika, można zweryfikować możliwość jej wykonania, jeżeli zbiór nierówności $B_{\sigma(z)}$ jest rozwiązywalny w zbiorze liczb rzeczywistych.

W dalszej części analizy wprowadzona została drobna modyfikacja takiego podejścia. Czas z_w "kończący" sekwencję będzie pomijany jako nieistotny w kontekście odpowiedzi na pytanie o wykonalność sekwencji tranzycji.

W celu zweryfikowania powyższej koncepcji przeprowadzona zostanie analiza sieci przedstawionej na rysunku 1. Sieć ta zawiera dwa t-niezmienniki:

$$x_1 = (1, 0, 0, 1, 1) \text{ ze wsparciem: } \{t_0, t_3, t_4\}$$

$x_2 = (0, 1, 1, 0, 0)$ ze wsparciem: $\{t_1, t_2\}$
 (niezmienniki takie można wyznaczyć między innymi za pomocą pakietu Time Petri Net Analyzer [12]).

Na podstawie wsparcia t-niezmienników x_1 oraz x_2 zbudowane zostały dwie sekwencje tranzycji zależne od czasu z :

$$\sigma_1(z) = (z_0, t_0, z_1, t_3, z_2, t_4)$$

$$\sigma_2(z) = (z_0, t_1, z_1, t_2)$$

Dla pierwszej sekwencji korzystając z funkcji czasowych sieci TPN (Def.2.) określających dla każdej tranzycji minimalny oraz maksymalny czas uruchomienia ($I_1(t_i) \leq z_i \leq I_2(t_i)$) otrzymujemy następujący zbiór nierówności :

$$B_{\sigma_1(z)} = \left\{ \begin{array}{l} 0 \leq z_0 \leq 1, z_0 + z_1 \leq 8, \\ 0 \leq z_1 \leq 1, z_0 + z_1 + z_2 \leq 8, \\ 0 \leq z_2 \leq 1 \end{array} \right\}$$

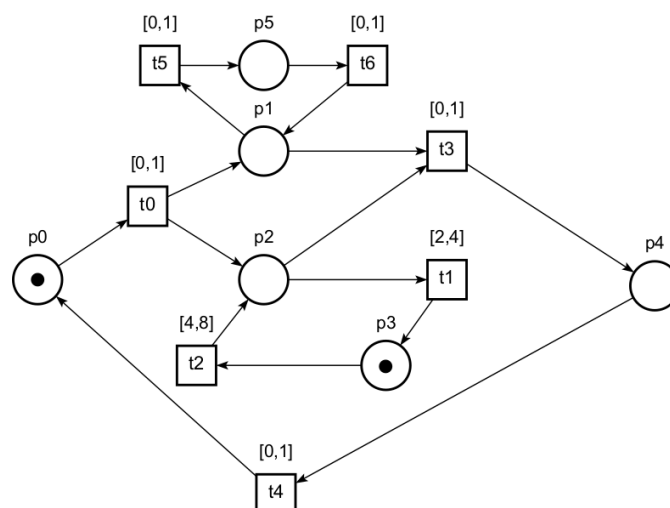
Można łatwo zauważyć, że istnieje rozwiązanie powyższego zbioru nierówności w zbiorze liczb rzeczywistych. Wartość 8 występująca po prawej stronie w dwóch z pięciu nierówności stanowi maksymalny czas uruchomienia dla tranzycji t_2 . Nie znajduje się ona w sekwencji $\sigma_1(z)$, jednak ze względu na token p_3 pozostaje ona aktywna. Musi więc zostać wzięta pod uwagę w obliczeniach, gdyż jej uruchomienie uniemożliwiłoby uruchomienie sekwencji $\sigma_1(z)$ w takiej formie, jak jest ona określona. Należy zauważyć, że w powyższym przykładzie uruchomienie t_2 nie jest nawet teoretycznie możliwe, ze względu na jej minimalny czas uruchomienia równy 4. Jest to wartość większa niż suma maksymalnych czasów uruchomienia wszystkich tranzycji w $\sigma_1(z)$. W związku z tym wynik weryfikacji czasowej dla wsparcia pierwszego t-niezmiennika jest pozytywny.

W przypadku drugiej sekwencji, widać, że dla danego stanu sieci nie jest ona możliwa do wykonania. Aby tranzycja t_1 stała się aktywna, musi najpierw uruchomić się albo tranzycja t_0 , której nie ma w $\sigma_2(z)$, albo tranzycja t_2 , która w $\sigma_2(z)$ wykonać ma się po tranzycji t_1 . Gdyby odwrócić kolejność tranzycji $\sigma_2(z)$, otrzymamy $\sigma_2'(z) = (z_0, t_2, z_1, t_1, z_2)$. Można dopuścić taką możliwość, ponieważ wsparcie t-niezmiennika nie określa konkretnej kolejności wykonywania się tranzycji. Dla $\sigma_2'(z)$ zbiór ograniczeń wygląda następująco:

$$B_{\sigma_2'(z)} = \left\{ \begin{array}{l} 4 \leq z_0 \leq 8, z_0 + z_1 \leq 1, \\ 2 \leq z_1 \leq 4 \end{array} \right\}$$

Wyraźnie widać, że powyższy układ nierówności nie posiada rozwiązania. Związane jest to z tranzycją t_0 . Nie ma jej w sekwencji $\sigma_2'(z)$, jednak jest ona aktywna, zostanie w związku z tym uruchomiona w czasie $0 \leq z_{t_0} \leq 1$. Stąd też bierze się wartość 1 po prawej stronie w jednej z trzech nierówności w zbiorze $B_{\sigma_2'(z)}$.

W celu zobrazowania złożoności problemu badana sieć została zmodyfikowana poprzez dodanie do niej tranzycji t_5 i t_6 (rys. 2). Podczas analizy strukturalnej zostały znalezione trzy t-niezmienniki. Dwa z nich mają identyczne wsparcie jak x_1 i x_2 dla sieci z rys. 1, różnią się oczywiście tym, że są dłuższymi wektorami ze względu na dwie nowe tranzycje. Oprócz nich, jako osobny t-niezmiennik istnieje również wektor $x = (0, 0, 0, 0, 0, 1, 1)$ ze wsparciem $\{t_5, t_6\}$. Łatwo zauważyć, że dla badanej wcześniej pierwszej sekwencji $\sigma_1(z)$ zbiór nierówności pozostaje niezmienny, tak samo jak dla sekwencji $\sigma_2(z)$.



Rys. 2. Czasowa sieć Petriego z trzema t-niezmiennikami.

Analizując jednak stan sieci po uruchomieniu tranzycji t_0 można zaobserwować, że dodatkowo aktywne staje się tranzycja t_5 . Jej uruchomienie skutkuje późniejszym uruchomieniem tranzycji t_3 . Wpływa to jednocześnie na możliwość uruchomienia badanej przez nas drugiej sekwencji $\sigma(z)$ niezależnie od liczby tokenów znajdujących się w miejscu p_2 . Z powodu konfliktu tranzycji t_3 i t_5 istnieje możliwość, że tranzycja t_5 zużyje token z miejsca p_1 , przez co t_3 staje się nieaktywna. Token następnie zostanie wykorzystany przez tranzycję t_6 i powróci na pozycję p_1 . Czas który może upłynąć podczas przejścia tokenu przez tranzycje t_5 oraz t_6 jest wystarczająco długi, aby tranzycja t_1 stała się aktywna i zużyła token z pozycji p_2 przed uruchomieniem tranzycji t_3 . Dzięki temu tranzycje z sekwencji: $\sigma(z) = (z_0, t_1, z_1, t_2, z_2)$ mogą się uruchomić pomimo, jednak w zmienionym stanie sieci, po wcześniejszym uruchomieniu innych tranzycji.

Z powodu tak restrykcyjnego aparatu matematycznego zaproponowanego we wspomnianej literaturze, powyższa analiza dla dłuższych t-niezmienników ma ograniczoną przydatność. Pozwala ona stwierdzić, że jeżeli zbiór nierówności dla danej sekwencji ma rozwiązanie w zbiorze liczb rzeczywistych, to na pewno tranzycje z tej sekwencji mogą zostać uruchomione. W przeciwnym wypadku jednak również nie można odrzucić takiej możliwości, co przedstawione zostało na powyższym przykładzie. Dlatego w dalszej części pokazany zostanie dodatkowy sposób weryfikacji czasowej wykorzystujący definicje długości czasu wykonania sekwencji tranzycji:

Definicja 5. *Długość czasu wykonania sekwencji [11]*

Dla czasowej sieci Petriego TPN oraz sekwencji tranzycji $\sigma(z)$, czasem wykonania sekwencji $l(\sigma(z))$ nazywamy sumę wszystkich czasów mijających podczas wykonywania tranzycji z sekwencji $\sigma(z)$.

Definicja 6. *Minimalna długość czasu wykonania sekwencji [11]*

Sekwencja tranzycji $\sigma(z)$ posiada minimalny czas wykonania, jeżeli nie istnieje możliwość jej wykonania w czasie krótszym niż $l(\sigma(z))$.

Analogicznie można zdefiniować maksymalny czas wykonania sekwencji. Dla tranzycji konkurujących o zasoby, takich jak t_3 oraz t_1 , można zbudować prowadzące do nich sekwencje tranzycji i sprawdzić ich maksymalne oraz minimalne czasy wykonania.

W tabeli 1 przedstawiono kilka z przykładowych sekwencji, które rozpoczynają się od wspólnej tranzycji t_0 oraz kończą się na wspomnianych tranzycjach konkurujących o zasoby.

Tabela 1

Minimalne i maksymalne długości czasów wykonania badanych sekwencji tranzycji.

sekwencja	t_0, t_1	t_0, t_3	t_0, t_5, t_6, t_3	$t_0, t_5, t_6, t_5, t_6, t_3$
$\min l(\sigma(z))$	2	0	0	0
$\max l(\sigma(z))$	5	2	4	6

Minimalny czas wykonania sekwencji t_0, t_1 wynosi 2. Natomiast maksymalny czas dla sekwencji t_0, t_5, t_6, t_3 jest większy i wynosi 4. Co więcej, gdy sekwencja się wydłuża poprzez powtórne wyłączenie tokena z miejsca p_1 przez tranzycje t_5 , czas po jakim może się uruchomić tranzycja t_3 ponownie wzrasta. Oznacza to, że istnieje możliwość uruchomienia tranzycji t_1 , zanim uruchomiona zostanie tranzycja t_3 . Na podstawie porównania długości czasów wykonania można potwierdzić, że dana tranzycja t_1 ze wsparcia drugiego t-niezmiennika $x_2 = (0, 1, 1, 0, 0, 0, 0)$ sieci z rys. 2 może zostać uruchomiona pomimo wykluczającego się zbioru nierówności B_σ dla zbudowanej dla niej sekwencji.

3.2. Przygotowanie i weryfikacja parametrów czasowych

Z badaniami dotyczącymi sieci czasowych często związany jest problem dobrania prawidłowych i precyzyjnych parametrów czasowych. Parametry te powinny zapewniać m.in., że sieć podczas symulacji zachowuje się zgodnie z wiedzą biologiczną dotyczącą modelowanego procesu biologicznego. Często okazuje się jednak, że parametry ilościowe opisujące badany proces dostępne w literaturze (np. czasy zachodzenia poszczególnych procesów elementarnych) są podawane w sposób nieprecyzyjny lub dla niektórych części badanego procesu w ogóle nie zostały dokładnie określone. Dla pewnych rodzajów modeli biologicznych dane takie można uzyskać sposobami bazującymi na strukturze sieci oraz pewnych charakterystycznych cechach wybranych procesów biologicznych.

Dobór parametrów czasowych wynikających ze struktury sieci zaproponowany został w [3] dla biologicznych modeli sieci sygnałowych, opartych na sieciach czasowych typu DPN. W podejściu tym istotna jest także forma sieci wynikająca z badanego procesu biologicznego, tj. sieć sygnałowa nie posiadająca cykli. Podejście takie opiera się na dość prostych układach równań i nierówności, wykorzystujących pojęcie *częstotliwości uruchomień* tranzycji. Dla tranzycji t_i zdefiniowana jest wartość f_i określająca liczbę uruchomień tej tranzycji w pewnej ustalonej jednostce czasu. W sieci czasowej DPN zależy ona od wartości opóźnienia uruchomienia d_i przypisanej do t_i . Jest oczywistym, że maksymalna wartość f_i jest odwrotnością wartości d_i dla pewnej określonej jednostki czasu. Całe podejście opiera się na przyjęciu zasady, w myśl której dla każdej substancji w modelowanym procesie (reprezentowanej przez miejsca sieci) jej suma produkcji jest równa sumie konsumpcji przez powiązane z daną substancją reakcje (tranzycje). Założenie to dla każdego miejsca p_x w sieci opisane jest równaniem:

$$\sum_{i=1}^{m^s} K_{I_i} = \sum_{j=1}^{n^s} K_{O_j}, \quad (1)$$

gdzie dla p_x istnieje m' tranzycji wejściowych, n' wyjściowych, natomiast K_{I_i} oraz K_{O_j} oznaczają, odpowiednio, liczbę tokenów produkowanych przez tranzycje wejściowe miejsca p_x oraz liczbę tokenów zabieranych przez tranzycje wyjściowe tego miejsca w pewnej ustalonej jednostce czasu. Przyjąć należy, że równość ta powinna być zachowana dla maksymalnej częstotliwości uruchomień f tranzycji w przyjętej jednostce czasu, tj. tranzycje aktywne natychmiast są uruchamiane. To zachowanie zapewnione jest jednak przez definicję sieci DPN. Ponieważ częstotliwość f_i uruchomień tranzycji t_i stanowi odwrotność opóźnienia d_i , opóźnienie to może być określone na podstawie f_i .

Zasady określania szybkości uruchamiania tranzycji są następujące. Po pierwsze, dla każdego miejsca p_x z jedną tranzycją wyjściową, dla którego liczba tranzycji wejściowych jest większa lub równa jeden, spełniona musi być poniższa równość:

$$\sum_{i=1}^{m'} \beta_i \cdot f_{I_i} = \alpha \cdot f_{O}, \quad (2)$$

gdzie m' określa liczbę tranzycji wejściowych, α oznacza wagę łuku dla tranzycji wyjściowej miejsca p_x , natomiast β_i oznacza wagę łuku dla odpowiedniej tranzycji t_i (wejściowej dla p_x). f_{I_i} oraz f_{O} oznaczają maksymalne częstotliwości uruchomień odpowiednio dla tranzycji wejściowych i jednej tranzycji wyjściowej.

Druga zasada stosuje się dla miejsc, w których tranzycje wyjściowe są w konflikcie. W takiej sytuacji powiązane z danym miejscem tranzycje posiadać muszą częstotliwości uruchomień f spełniające poniższy układ równania i nierówności:

$$\begin{cases} \sum_{i=1}^{m'} \beta_i \cdot f_{I_i} = \sum_{j=1}^{n'} \alpha_j \cdot f_{O_j} \\ 2 \cdot \frac{f_{O_{n'}}}{\alpha_{n'}} \geq \frac{f_{O_1}}{\alpha_1} \geq \frac{f_{O_2}}{\alpha_2} \geq \dots \geq \frac{f_{O_{n'}}}{\alpha_{n'}} \end{cases}, \quad (3)$$

gdzie m' oznacza liczbę tranzycji wejściowych, n' liczbę tranzycji wyjściowych, α_j oraz β_i oznaczają, odpowiednio, wagi łuków tranzycji wyjściowych oraz wejściowych, f_{I_i} oraz f_{O_j} to maksymalne częstotliwości uruchomień, odpowiednio tranzycji wejściowych i wyjściowych. Tranzycje wyjściowe numerowane są według malejących wag α_j , tj., α_1 oznacza maksymalną wagę łuku wyjściowego w podzbiorze wag rozpatrywanego miejsca, natomiast $\alpha_{n'}$ minimalną wagę łuku wyjściowego rozpatrywanego miejsca.

Przedstawiona metoda określania opóźnień tranzycji dotyczy sieci typu DPN, co oznacza, że z każdą tranzycją związana jest jedna, stała wartość opóźnienia produkcji tokenów. Dodatkowym ograniczeniem wynikającym z samej metody jest to, że tranzycje będące w konflikcie uzyskują równe czasy opóźnienia (z uwzględnieniem proporcji w wagach łuków, tj. różne wartości opóźnień są możliwe tylko dla różnych wartości wag α), co wynika ze wzoru (1). Innymi słowy, taka wersja metody określania czasu może klasyfikować różne reakcje (reprezentowane przez tranzycje) jako mające taki sam czas trwania, o ile są w konflikcie oraz tworzą taką samą liczbę (choć zapewne innych) produktów. Jest to więc dość poważne ograniczenie w badaniu modeli biologicznych.

Z uwagi na te ograniczenia, w pracy [4] zaproponowano rozwinięcie powyższej metody umożliwiające przypisanie tranzycjom będącym w konflikcie różnych czasów uruchamiania, a przede wszystkim umożliwienie przypisania im przedziałów czasu, co ma miejsce w sieciach TPN. Podejście to bazuje na nieco obszerniejszym aparacie matematycznym, dlatego przedstawione zostanie tutaj tylko podstawowe założenie dla układów równań i nierówności wprowadzonych w [4] opisujących czasy uruchomienia tranzycji. Bazą dla nowej metody jest wprowadzenie nowej podklasy sieci Petriego, tak

zwanej *sieci wolnej od zatrzymań* (ang. *retention-free net*), w której przepływ tokenów przez każde miejsce w ustalonej jednostce czasu spełnia poniższą nierówność.

$$\sum_{i=1}^{m'} K_{I_i} \leq \sum_{j=1}^{n'} \overline{K_{O_j}} \quad (4)$$

Różnica w stosunku do równania (1) polega na tym, że w równaniu (4) znajdująca się po prawej stronie wartość $\sum_{j=1}^{n'} \overline{K_{O_j}}$ oznacza maksymalną możliwą konsumpcję tokenów z danego miejsca w ustalonej jednostce czasu (przez wszystkie jego tranzycje wyjściowe). Innymi słowy, sieć z czasami określonymi za pomocą metody zaproponowanej w [4] produkuje w każdym swoim miejscu nie więcej tokenów niż z takiego miejsca jest ich pobieranych w określonej jednostce czasu.

Obie metody, zarówno dla sieci DPN, jak i TPN, dają dwie podstawowe możliwości. Po pierwsze, w przypadku braku danych czasowych pochodzących np. w publikacji czy eksperymentów, umożliwiają obliczenie zmiennych czasowych dla sieci, opierając się na założeniu istnienia wewnętrznej równowagi w produkcji i konsumpcji tokenów w miejscach sieci. W przypadku publikacji [3] oraz [4], autorzy potwierdzili stosowność swojego podejścia odpowiednio dla sieci modelującej proces transdukcji sygnałów w ścieżce apoptotycznej oraz dla sieci sygnałowej interleukiny-1. Obliczone czasy pomagają utworzyć model, w którym reakcje przebiegają w sposób przewidywalny, utrzymujący równowagę całego procesu. Pojawia się jednak kwestia szerszego zastosowania takiego podejścia z punktu widzenia ograniczeń opisaną metodologią badań. Przede wszystkim chodzi tutaj o wymóg braku cykli, które mogą występować w wielu sieciach będących modelami systemów biologicznych. Pomimo pozytywnych rezultatów dla badanych modeli biologicznych jest to otwarty problem, który autorzy pracy [4] uznali za istotny i wart dalszych rozważań.

3.3. Analiza stanu ustalonego sieci

Stan ustalony procesu biologicznego może być w uproszczeniu zdefiniowany jako taki, w którym istnieje równowaga w produkcji i konsumpcji związków chemicznych wchodzących w skład całego procesu. Analiza tego typu może pozwolić uzyskać interesującą wiedzę na temat badanego systemu biologicznego. W ramach przykładu można wyobrazić sobie model pewnego procesu zachodzącego w zdrowym organizmie oraz model procesu chorobowego. W pierwszym przypadku dokładna wiedza na temat stanu ustalonego pozwolić może między innymi na określenie warunków (np. istnienie pewnych podprocesów lub stanów), które jeśli nastąpią, wytrącają system z równowagi. Natomiast model procesu chorobowego może przedstawiać system, w którym brak jest takiej równowagi, a jego analiza może pozwolić na uzyskanie wiedzy w jakich warunkach możliwy jest jej odzyskanie.

Należy określić różnicę między stanem ustalonym systemu biologicznego a stanem sieci Petriego. Ten ostatni został już formalnie opisany jako rozkład tokenów w miejscach sieci. Stan sieci Petriego, w którym nie mogą nastąpić dalsze zmiany w rozkładzie tokenów na skutek niemożności uruchomienia jakiegokolwiek tranzycji nazywany *stanem martwym*. Stan ustalony może być opisany np. poprzez graf stanów sieci, w którym występuje cykl lub cykle pomiędzy poszczególnymi stanami [10]. Jest to sytuacja, w której następują co prawda zmiany rozkładu tokenów, jednak sieć jako całość jest w sytuacji pewnej równowagi, tj. kolejne reakcje lub całe procesy odwracają efekty poprzednich.

Zanim zostaną przedstawione możliwości sieci czasowych w zakresie badania stanu ustalonego, należy wcześniej wyraźnie określić ich ograniczenia. Z definicji stanu ustalonego jasno wynika, że jest to stan pewnej (dynamicznej) równowagi. Istnieć więc muszą pewne sprzężenia zwrotne pomiędzy reakcjami chemicznymi w całym systemie, które w konsekwencji doprowadzić mogą do takiego stanu. W sieciach stochastycznych lub ciągłych (tj. opartych o równania różniczkowe) tempo zachodzenia reakcji zależne jest od liczby tokenów w poszczególnych miejscach sieci, dlatego sieć taka ma teoretyczną możliwość auto-regulacji umożliwiającej zachowanie równowagi w całościowej produkcji i konsumpcji tokenów. Opisane w niniejszej pracy sieci czasowe nie posiadają takiego mechanizmu - uruchomienie tranzycji jest ściśle określone albo przez zakres czasu, w którym reakcja powinna nastąpić, albo też przez czas jej trwania. Jeżeli wartości te zostaną nieprawidłowo dobrane, model oparty o tego rodzaju sieć nie będzie odzwierciedlać systemu w stanie równowagi, ani też symulacja takiej sieci w ogólności do niego nie doprowadzi.

Mimo tych ograniczeń, sieci czasowe mogą być do pewnego stopnia stosowane w celu badania stanu ustalonego układu. W pracy nad modelami zbudowanymi przy użyciu sieci Petriego (nie tylko czasowymi) bardzo duża wiedza o badanym procesie może być uzyskana na podstawie analizy przestrzeni stanów. W teorii, poznanie całej przestrzeni stanów pozwala uzyskać pełną wiedzę o zachowaniu się sieci. Główny problem i wynikające z niego ograniczenia związane są z olbrzymią lub nie tak rzadko - nieskończoną wielkością tej przestrzeni. W sieciach czasowych możliwa jest jednak redukcja przestrzeni stanów (nawet nieskończonej) do pewnego podzbioru zawierającego tylko istotne stany, na bazie którego analiza ilościowa i jakościowa jest wciąż możliwa, a co ważne, bez znaczącej utraty dokładności [10]. Zasady tego typu redukcji i dowody poprawności opisane są bardzo dokładnie w [11]; ze względu na swoją obszerność nie będą tutaj prezentowane. Istotny jest jednak fakt, że podejście takie w sieciach czasowych jest realne.

Możliwe jest zatem opisanie stanu ustalonego modelu pewnego systemu biologicznego przy użyciu zredukowanej przestrzeni stanów, o ile dysponuje się siecią czasową z parametrami czasowymi odpowiadającymi stanowi ustalonemu. Należy jednak najpierw poradzić sobie z problemem opisanym we wcześniejszym akapicie, tj. prawidłowym doбором odpowiednich parametrów czasowych. Do tego celu wymagana jest wiedza na temat tempa reakcji (która mogą być reprezentowane, np. przez opóźnienie w produkcji tokenów) oraz dane o koncentracji substancji w stanie ustalonym. Narzędziem, które może doprowadzić do uzyskania tych danych są np. sieci stochastyczne (SPN). W tego typu sieci prawdopodobieństwo uruchomienia każdej tranzycji (innymi słowy, czas do jej następnego uruchomienia) jest zmienną losową. W procesie tworzenia sieci stochastycznej należy określić parametr gęstości prawdopodobieństwa przypisany do każdej tranzycji. Prawdopodobieństwo uruchomienia tranzycji w sieci SPN może być dodatkowo zależne od koncentracji tokenów w jej miejscach wejściowych. Dzięki temu, w czasie symulacji takiej sieci teoretycznie możliwe staje się uzyskanie stanu ustalonego (o ile w danym systemie biologicznym może on wystąpić). W momencie zaobserwowania takiego stanu, poznać można zarówno dokładne dane na temat średniego tempa reakcji, jak i dane o koncentracji substancji w systemie. Należy tutaj zaznaczyć, że pomimo tego, że tempo to jest zależne od parametru gęstości prawdopodobieństwa, to ze względu na inne czynniki jak np. zmieniający się rozkład tokenów w czasie symu-

lacji, jego średnia wartość nie jest znana przed zakończeniem symulacji. Koncentracja substancji w systemie odpowiada bezpośrednio liczbie tokenów zarówno w sieci stochastycznej jak i czasowej, a średnie tempo zachodzenia reakcji w sieci SPN może być zmienione np. w opóźnienie w sieci typu DPN. Na przykład, reakcja o bardzo niewielkim prawdopodobieństwie zachodzenia w modelu stochastycznym odwzorowywana jest tranzycją czasową z bardzo dużym opóźnieniem. Odwrotnie, reakcje często zachodzące posiadać będą odpowiednio małe opóźnienia. Tak uzyskana sieć czasowa może być użyta do wygenerowania podzbioru *istotnych stanów* z całej przestrzeni, opisujących dokładnie stan ustalony (innymi słowy tych stanów, które tworzą zredukowaną przestrzeń zgodnie z metodami opisanymi w [11]). Tego typu podejście zostało z sukcesem przedstawione w [10]. Przyjęty model biologiczny to wzajemny wpływ na siebie dwóch protein: RKIP (Raf-1 Kinase Inhibitor Protein) oraz ERK (Extracellular signal Regulated Kinase) w sieci sygnałowej. Uzyskano w ramach tego typu analizy zredukowany graf stanów przedstawiający zależności czasowe pomiędzy stanami sieci wchodzącymi w skład stanu ustalonego, co nie jest możliwe w sposób bezpośredni dla modelu oparte- go tylko na sieciach stochastycznych.

4. Podsumowanie

Czas jest czynnikiem mającym niezmiernie istotny wpływ na przebieg procesów biologicznych. Możliwość jego określenia i zastosowania w modelowaniu takich procesów umożliwia stosowanie dokładniejszej analizy w oparciu o wykonany model. Określenie tempa zachodzenia reakcji w oparciu o dane z literatury naukowej jest często bardzo trudne, ze względu na ich ograniczoność lub niedokładność. Opisana w artykule metoda doboru parametrów czasowych w oparciu o strukturę sieci i założenie zachowania równowagi w dynamice przepływu tokenów daje dodatkowe możliwości w tym zakresie, jednak nie jest ona w pełni wystarczająca np. w kontekście sieci, w których występują cykle. Dane czasowe uzyskane w ten sposób mogą być wykorzystane zarówno do weryfikacji danych z literatury (o ile te ostatnie są dostępne), ale także jako punkt wyjścia do bardziej precyzyjnego określenia czasu, np. w oparciu o dalszą symulację zachowania się badanego modelu. Sieci czasowe stanowią mogą także narzędzie wykorzystywane w analizie stanu ustalonego procesu biologicznego. Nie należy także zapominać, że analiza sieci Petriego wywodząca się z sieci klasycznych również zyskuje po uzupełnieniu informacją o czasie uruchomienia lub opóźnienia uruchomienia jej poszczególnych tranzycji. W ramach tego rodzaju analizy, w niniejszej pracy zostały przedstawione podstawowe metody wykorzystania wartości czasowych do określania wykonalności sekwencji tranzycji, w szczególności będących t-niezmiennikami, a także ich ograniczenia.

LITERATURA

1. Blazewicz J., Formanowicz D., Formanowicz P., Sackmann A., Sajkowski M.: Modeling the process of human body iron homeostasis using a variant of timed Petri nets, *Discrete Applied Mathematics*, 157, 2009, p. 2221-2231.
2. Heiner M., Gilbert D., Donaldson R.: *Petri nets for systems and synthetic biology*,

- Lecture Notes in Computer Science, 5016, 2008, p. 215-264.
3. Li C., Ge Q-W., Nakata M., Matsuno H., Miyano S.: Modelling and simulation of signal transduction in an apoptosis pathway by using timed Petri nets, *Journal of Biosciences*, 32(1), 2007, p. 113-127.
 4. Miwa Y., Li C., Ge Q-W., Matsuno H., Miyano S.: On determining firing delay time of transitions for Petri net based signaling pathways by introducing stochastic decision rules, *In Silico Biology*, 10(1), 2010, p. 49-66.
 5. Murata T., *Petri Nets: Properties, Analysis and Applications*, Proceedings of the IEEE, 77, 1989, p. 541-580.
 6. Petri C.A.: *Communication with Automata* (in German), Schriften des Instituts für Instrumentelle Mathematik, Bonn, 1962.
 7. Popova L., On Time Petri Nets, *Journal of Information Processing and Cybernetics*, 4, 1991, p. 227-244.
 8. Popova L., Heiner M., Koch I.: Time Petri nets for modelling and analysis of biochemical networks, *Fundamenta Informaticae*, 27, 2005, p. 149-162.
 9. Popova L.: Time Petri nets: Theory, Tools and Applications, Part II, <http://www2.informatik.hu-berlin.de/~popova/2-part-short.pdf>, last access: 11.5.2016
 10. Popova L., Pelz, E.: Studying Steady States in Biochemical Reaction Systems by Time Petri Nets, Proceedings of the 2nd International Workshop on Biological Processes & Petri Nets, 2011, p. 71-86.
 11. Popova L.: *Time and Petri Nets*, Springer, Berlin, 2013.
 12. Time petri Net Analyzer, <http://www2.informatik.hu-berlin.de/~starke/ina.html>, ostatni dostęp: 11.5.2016