

TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL

Loodusteaduskond

Küberneetika instituut

Janek Käsper 194038YAFB

**MITOKONDRIAALSETE PROTSESSIDE  
MODELLEERMINE**

Õppekava: Rakendusfüüsika

Bakalaureusetöö

Juhendaja: Marko Vendelin  
professor, Tallinna Tehnikaülikool  
PhD

Tallinn 2023

## **Autorideklaratsioon ja juhendaja resolutsioon**

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud

Kuupäev : 22.05.2023

Autor : Janek Käsper

Allkiri :

Töö vastab bakalaureusetööle/magistritööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja : Marko Vendelin

Allkiri :

# Sisukord

<b>1</b>	<b>Sissejuhatus</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Bioloogiline oksüdatsioon mitokondrites</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>Matemaatilised mudelid</b>	<b>8</b>
3.1	Mudel 1 . . . . .	8
3.2	Substraadi transport . . . . .	9
3.3	$ATP_{syn}$ ja $ATP_{ase}$ . . . . .	9
3.4	D.A.Beard'i mudel . . . . .	9
3.5	Dehüdrogenaas . . . . .	11
3.6	Hingamisahel . . . . .	11
3.7	ATP süntees . . . . .	13
3.8	Magneesiumi sidestumine . . . . .	13
3.9	Substraadi transport . . . . .	14
3.10	Adenülaatkinaas . . . . .	15
3.11	Katioon transport . . . . .	15
3.12	Mudeli parameetrid . . . . .	16
3.12.1	Kompartimentid ja reatsioonid . . . . .	16
3.12.2	Konstandid . . . . .	17
<b>4</b>	<b>Modeleerimise tarkvara</b>	<b>18</b>
4.1	Maastik . . . . .	18
4.2	Tarkvara ülevaade . . . . .	19
4.2.1	OpenCell . . . . .	19
4.2.2	OpenCOR . . . . .	19
4.2.3	Virtual Cell . . . . .	20

4.2.4	COPASI . . . . .	21
4.3	Tarkvara kokkuvõte . . . . .	22
<b>5</b>	<b>Tulemused</b>	<b>24</b>
5.1	Mudel 1 tulemused . . . . .	24
5.2	D.A.Beard'i mudeli tulemused . . . . .	26
<b>6</b>	<b>Arutelu</b>	<b>28</b>
<b>7</b>	<b>Kokkuvõte</b>	<b>29</b>
	<b>Annotatsioon</b>	<b>30</b>
	<b>Tänuavaldus</b>	<b>31</b>
	<b>Kasutatud kirjandus</b>	<b>32</b>

# 1 Sissejuhatus

Rakud on elusorganismide põhilised ehituskivid ja täidavad mitmeid olulisi funktsioone. Rakud moodustavad organismide kudesid ja organeid, mis võimaldavad täita eluks vajalikke ülesandeid. Samuti vastutavad ainevahetuse eest, sisaldavad geneetilist informatsiooni ning on seotud kasvu ja arenguga. Raku protsesside modelleerimine tähendab eelkõige matemaatiliste mudelite loomist, mis kirjeldavad raku funktsioone, protsesse ja nende mõju raku sisele ainevahetusele. Taoliste mudelite koostamine on äärmiselt tähtis valdkond biofüüsikas, füsioloogias ja biokeemias. Tänu sellele saavad teadlased paremini mõista näiteks ravimite toimemehhanisme ja nende mõju.

Suurem osa mudelitest on kirjutatud kasutades selliseid keeli nagu Python ja MatLab, mis eeldab kindlate oskuste ja teadmiste omamist. Modelleerimis protsessi kirjeldamine läbi programmeerimise keele hõlmab reeglite ja tingimuste loomist, mis juhivad programmi toimimist vastavalt protsesside nõuetele. See võimaldab meil vaadelda erinevaid stsenaariume, uurida süsteemi käitumist ning teha prognoose. Oluline on omada programmeerimisoskusi, matemaatilist arusaama ja tunda numbrilisi meetodeid, et jõuda püstitatud eesmärgini.

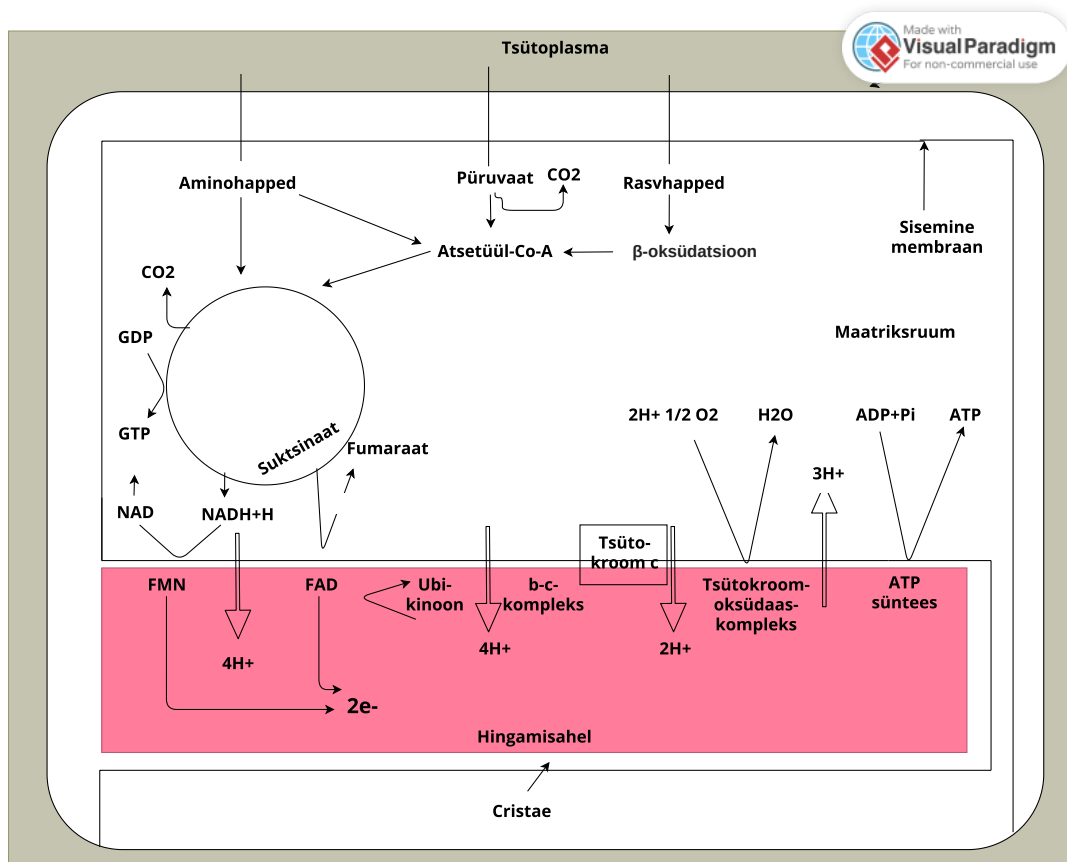
Keeltel põhinev mudel ei pruugi anda alustavale bioloogile ja biofüüsikule piisava ülevaate toimuvatest protsessidest. Halb ülevaade kogu töö ulatuses võib olla tingitud nii mudeli kui ka koodi kompleksusest. See tähendab eelkõige seda, et kindla valdkonna teadmistega inimene peab keskenduma programmeerimise teadmiste omandamisele mitte oma teadmiste rakendamisele. Tagajärjeks võib olla bioloogide ja biofüüsikute ebaproduktiivne koostöö või teadmiste omandamine.

Bakalaureusetööl oli kaks põhieesmärki. Esimeseks eesmärgiks oli leida selline vabavara, mille fookus langeks eelkõige modelleerimisele, mitte programmeerimisele. Eesmärk tagaks seda, et nii bioloogid kui ka biofüüsikud võiksid eelkõige keskenduda, mitte programmeerimise teadmiste omandamisele, vaid oma valdkonna toimuvatele protsessidele ja nende sisule, mis omakorda aitaks paremini mõista üksteise tööd. Teiseks eesmärgiks oli tutvuda suurema mudeliga ning kasutades valitud vabavara seda ära kirjeldada. Modelleeritavaks mudeliks osutus Daniel.A. Beard'i artiklis nimega "A biophysical model of the mitochondrial respiratory system and oxidative phosphorylation" kirjeldatud mudel [1].

Töö koosneb viiest osast. Töö esimeses osas kirjeldan mitokondri bioloogilisi protsesse, et anda lugejale algse ülevaate toimuvatest protsessidest ja nende omavahelistest mõjudest ning tähtsusest. Teises osas keskendun matemaatiliste mudelite kirjeldamisele, kus täpsemalt seletan lahti kasutatud tähistusi, indekseid, reaktsioone ja nende mõju ning kasutatavaid valemid. Töö kolmandas osas keskendun tarkvara otsingule, mida edaspidi kasutan modelemiseks. Selles peatükis annan ülevaate olemasolevast vabavarast, koos selle lühikirjeldusega, lähtudes oma eelistustest. Töö neljandas osas annan ülevaate saadud tulemustest, arutan mudelis tehtud muudatusi ja järgnevaid samme. Töö viimases osas teen kokkuvõtte saadud tulemustest ning eesmärgi saavutamisest.

## 2 Bioloogiline oksüdatsioon mitokondrites

Antud osas annan lühiülevaate mitokondris toimuvatest protsessidest (Joonis 1).



Joonis 1: Skemaatiliselt kujutatud tähtsamad ainevahetusreaktsioonid, mis toimuvad bioloogilise oksüdatsioonil mitokondrites

Protsesside kirjeldused on võetud õpiku "Inimese füsioloogia" baasil [2]. Mitokondri on keemilist energiat teisendav organell, mille esmane tähtsus on sünteesida ATP-d kasutades selleks adeniindifosfaati ja anorgaanilist fosforit. Mitokondri koosneb kahest membraanist. Välimine membraan vahendab kokkupuudet tsütoplasma ja sisemine ümbritseb mitokondri maatriksit. Välimise ja sisemise membraani vahel asetseb membraanide vaheline ruum, millel on oma tähtsus eelkõige valkude, lipiidide ja metalliioonide transportimisel [3]. Mitokondrite poolt sünteesitav ATP saab alguse püruvaadist, mis tekib tsütoplasmas, esmajärjekorras glükoosi aeroobse ainevahetuse lõpp-produktina. Läbides mitokondrite membraansüsteemi, transporditakse püruvaat, rasvhapped ja aminohapped tsütoplasmast mitokondrite maatriksruumi, milles nad lõpuks spetsiifilise ainevahetuse käigus lõhustatakse tsitraaditsükli lülitavateks aineteks, kus tekib atsetüülkoensüüm-A. Atsetüülkoensüüm-A liigub, tsitraaditsükli, kus toimub kolmes dehüdrogeenimisreaktsioonis moodustunud NADH molekulid ja suksinaat difundeeruvad mitokondrite sisemisele membraanile, millele on lokaliseeritud hingamisahel ja oksüdatiivse fosforüülimise ensüümid. Hingamisahel koosneb neljast kompleksist (Kompleks I-IV). NADH ja suksinaat oksüdeeritakse seal hingamisahela ensüümkompleksi poolt, mille tulemusena saame vabu elektrone. Oksüdatsiooni protsessil va-

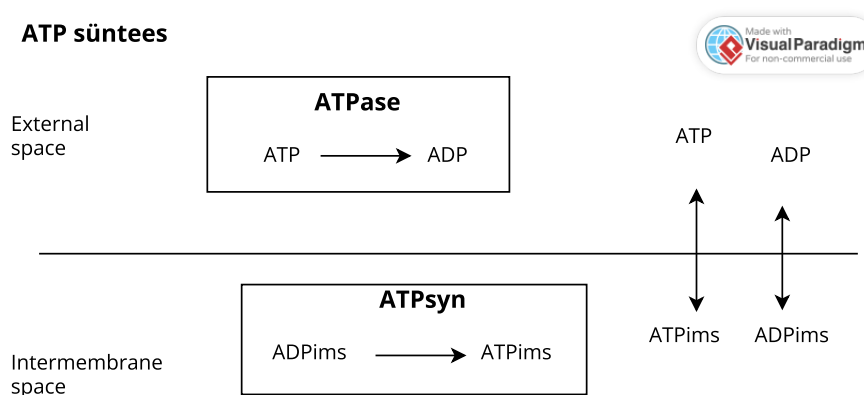
banenud elektronid jõuavad elektronide transpordiahela (ubikinoon, b-c1-kompleks, tsütokroom) kaudu tsütokroom-oksüdaas-kompleksile, mis kannab need üle molekulaarsele hapnikule. Elektronide transpordil vabaneva energia abil saab prootoneid läbi mitokondrite sisemise membraani maatriksruumist välja pumbata. Moodustunud elektrokeemiline prootonite gradient loob tingimused mitmesuguste energiat vajavate protsesside toimumiseks, millest esikohal on ATP süntees. Ühe molekuli dehüdrogeenitud NADH kohta võib tekkida umbes 3 molekuli ATP-d, ühe molekuli dehüdrogeenitud FADH kohta moodustada umbes 2 molekuli ATP-d. Esimesel juhul on ATP tekke ja hapniku tarbimise suhe (P/O<sub>2</sub> suhtarv) umbes 6, see tähendaks, et 6 mooli ATP moodustamiseks kulutatakse 1 mool hapniku(O<sub>2</sub>), teisel juhul umbes 4.

### 3 Matemaatilised mudelid

Töö raames käsitlesime kahte matemaatilist mudelit. Mudel 1 oli lihtne ning selle eesmärgiks oli valitud tarkvara katsetamine ja funktsionaalsuse uurimine kuna tulemused ja käitumine olid kergesti aimatavad. D.A.Beard'i mudel keskendus mitokondriaalsete protsesside uurimisele ning kirjeldab mitokondrite hingamissüsteemi ja oksüdatiivse fosforüleerimise protsessi.

#### 3.1 Mudel 1

Mudel koosneb neljast protsessist, milleks on ATP tarbimine ATPase poolt, ATP süntees ATPsyn poolt ning ATP ja ADP difusioon (Joonis 2).



Joonis 2: Skeemina kujutatud Mudel 1 tähtsamad protsessid, milleks on  $ATP_{ase}$ ,  $ATP_{syn}$  ja difusioon kahe kompartmendi vahel

Antud mudel on bioloogilise oksüdatsiooni poolest triviaalne kuna mudel koosneb kahest kompartmendist, milleks on välis puhver ehk *external space* ja IMS ehk *intermembrane space* ning maatriks ei ole esindatud. Mitokondrid paiknevad välis puhvri lahuses, milles on lahustatud ATP ja ADP algkogused ning ATP tarbija(ATPase). IMS-i ruumis paikneb ATP süntees(ATPsyn) ning samuti algsed IMS ruumi kontsentratsioonid. Järellide ims tähistab IMS kontsentratsioone ning ATP ja ADP on välis puhvri kontsentratsioonid. ATPase reaktsiooni roll on tarbida ATP, mille tagajärjel tekib ADP. ATPsyn reaktsiooni roll on tarbida ADPims, mille tagajärjel tekib ATPims.  $ATP \leftrightarrow ATPims$   $ADP \leftrightarrow ADPims$  on difusioon.



### 3.2 Substraadi transport

Substraatide  $ATP$ ,  $ADP$ ,  $ADP_{ims}$  ja  $ATP_{ims}$  difusioon välise puhvri ja IMS-i vahel on esindatud:



ning arvutatud:

$$\begin{aligned}J_{ADP} &= p_A([ADP] - [ADP]_{ims}) \\J_{ATP} &= p_A([ATP] - [ATP]_{ims})\end{aligned}\tag{2}$$

kus  $p_A$  on juhtivuse konstant.

### 3.3 $ATP_{syn}$ ja $ATP_{ase}$

$ATP$  sünteesiks on vaja  $ADP_{ims}$  ning anorgaanilist fosforit. Antud mudelis fosforit eraldi ei ole käsitletud eeldates, et seda on külluses.  $ATP$  tarbimiseks on vaja  $ATP$ . Läbi  $ATP_{syn}$  reaktsiooni saadakse  $ATP_{ims}$  alati juurde ning seejärel läbi difusiooni protsessi toimetatakse saadud  $ATP$ -d  $ATP_{ase}$ -sse, kus seda tarbitakse tekitades  $ADP$ -d. Tekib ringlus, mille käigus süsteem jõuab statsionaarsesse olekusse. Antud reaktsioonide keemilised valemid on vastavalt:



ning arvutatud, kasutades Michaelis-Menteni pöördumatu võrrandit vastavalt:

$$\begin{aligned}J_{ATP_{syn}} &= \frac{X_{syn}[ADP]_{ims}}{K_{syn} + [ADP]_{ims}} \\J_{ATP_{ase}} &= \frac{X_{ase}[ADP]}{K_{ase} + [ADP]}\end{aligned}\tag{4}$$

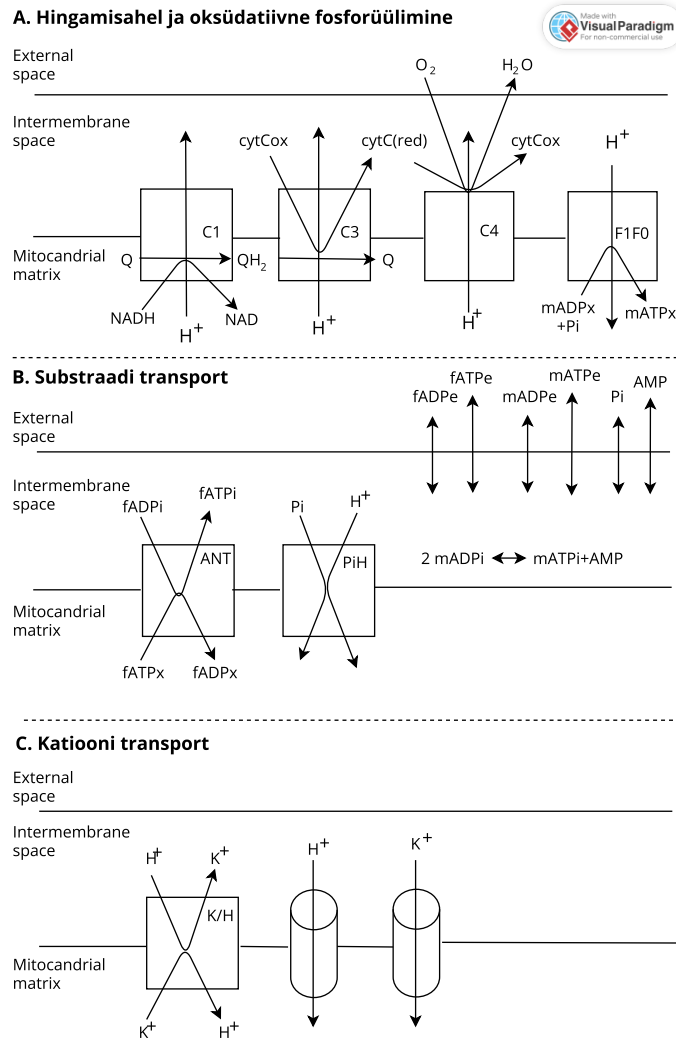
kus  $X_{syn}$  ja  $X_{ase}$  on reaktsiooni kiirused ning  $K_{syn}$  ja  $K_{ase}$  on Michaelis-Menteni konstandid.

### 3.4 D.A.Beard'i mudel

D.A.Beard'i mudel on mitokondriaalsete protsesside mudel, mis kirjeldab mitokondrite hingamissüsteemi ja oksüdatiivse fosforüleerimise protsessi. Mudeli märkimisväärne tähtsus seisneb selles, et on ehitatud jälgides mehaanika ja termodünaamika seadusi ning on eraldi vaadeldud membraani potentsiaalide muutuse ja prootonite liikumise.

Mitokondriaalse mudeli põhikomponendid, mis hõlmavad reaktsioone kompleksites I, III ja IV, hingamisahela ja  $ATP$  sünteesi  $ATP$ paasis, on esitatud (Joonisel 3A). Substraaditranspor-

tijad, sealhulgas adenini nukleotiiditranslokaas (ANT) ja fosfaat- ja vesiniku ko-transporter (PiH) ja NAD degüdrogenaas(DH) on kujutatud (Joonisel 3B). (Joonisel 3C) on kujutatud katiooni reaktisoonide kiirusi läbi sisemembraani, mis hõlmavad  $K^+/H^+$ -antiporterit ja passiivset  $H^+$ - ja  $K^+$ - sissevoolu. Mudel sisaldab kahte mitokondri kompartmendi (maatriks ja sisemembraani ruumi).



Joonis 3: (A) Elektronitranspordisüsteemi peamised komponendid, mis edastab NADH-lt hapnikule redutseerivat potentsiaali ja F1F0 ATPaas, mis muundab energia prootonide liikumapanevast jõust ATP-ks. Kompleksid I, III ja IV on tähistatud C1, C3 ja C4.

(B) Näidatud on mudelis sisalduv substraaditranspordi protsess, sealhulgas ANT ja PiH sisemembraanil ning passiivne ATP, ADP, AMP ja Pi difusioon läbi välismembraani. Näidatud on AK-reaktsioon IM-ruumis.

(C) Vesinik- ja kaaliumioonide transporterid sisemisel membraanil. Sealhulgas  $K^+/H^+$  antiporter ja passiivne prooton- ja kaaliumi sissevool.

Järgnevalt kirjeldatakse mudelit võrranditega, kus esinevad järelliited. Antud järelliited määravad kontsentratsioonide asukoha mitokondris, kus "x" tähistab maatriksi ning mudelis defineeritud, kui MATRIX. "i" tähistab membraanide vahelist ruumi ning mudelis defineeritud, kui IMS. "e" tähistab välis puhvri ning mudelis defineeritud, kui EXTERNAL. Kontsentratsioonid  $fATP_i$  ja  $fADP_i$  tähistavad magneesiumiga mitteseotuid ATP ja ADP IMS-is.

Kontsentratsioonid  $fATP_x$  ja  $fADP_x$  tähistavad magneesiumiga mitteseotuid ATP ja ADP maatriksis. Kontsentratsioonid  $mATP_i$  ja  $mADP_i$  tähistavad magneesiumiga seotuid ATP ja ADP muutujaid IMS-is. Kontsentratsioonid  $mADP_x$  ja  $mADP_x$  tähistavad magneesiumiga seotuid ATP ja ADP maatriksis. Välisruum vastab ruumi puhvrile.

### 3.5 Dehüdrogenaas

Antud mudel ei hõlma suuremat osa tsitraadisükli ja teisi NADH-d loovaid reaktsioone ning ei ole otseselt esitatud. Selle asemel oli kasutatud liikumapanevat jõudu, et simuleerida fosfaadist sõltuvat NAD reduktsiooni NADH-ks läbi maatriksis asuva keemilise reaktsiooni:



kasutades järgmist arvutusvalemit:

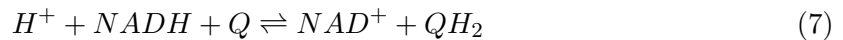
$$J_{DH} = X_{DH} \left( \frac{1 + \frac{[Pi]_x}{kPi_1}}{1 + \frac{[Pi]_x}{kPi_2}} \right) (r[NAD]_x - [NADH]_x) \quad (6)$$

kus  $NADH_x$  ja  $NAD_x$  tähistavad maatriksi muutuja kontsentratsioone. Muutuja  $Pi_x$  tähistab maatriksis oleva inorgaanilist fosfaadi kontsentratsiooni.  $X_{DH}$  on reaktsiooni kiirus konstant. Empiirilised parameetrid olid  $kPi_1$  ja  $kPi_2$ . Seega juhib dehüdrogenaasi reaktsiooni kiirus  $[NADH]_x/[NAD]_x$  suhet  $r$  suunas, kusjuures reaktsioonikiirus sõltub fosfaadi kontsentratsioonist, mis on mitokondriaalse dehüdrogenaasi substraadiks [1].

### 3.6 Hingamisahel

#### Complex I

Keemiline reaktsioon, mis oli kasutatud reaktsiooni kiiruse modelemiseks C1 kompleksis:



Reaktsiooni kiirus C1 oli arvatud kasutadesvalemit:

$$J_{C1} = X_{C1} \left( \frac{(e^{-\left(\Delta G_{C1} + 4\Delta G_H - RT \ln\left(\frac{[H^+]_x}{10^{-7}}\right) - RT \ln\left(\frac{[Q]}{[QH]_2}\right)\right)}}{RT} [NADH]_x - [NAD]_x \right) \quad (8)$$

C1 arvutus valem asendab elektronide käitumise ülekannet NADH-lt ubikinoonile ehk koensüüm Q (kompleksite vaheline elektroni transportija).  $X_{C1}$  on C1 reaktsiooni kiirus, Q ja  $QH_2$  tähistavad oksüdeerunud ja redutseerunud ubikinooni, RT on gaasi konstant korda absoluutne temperatuur.  $\Delta G_{C1}$  on C1 reaktsiooni redutseerimispotentsiaal(standartne vaba energia)

ning  $\Delta G_H$  on elektrokeemiline gradient. Elektrokeemiline gradient oli arvatud järgnevalt:

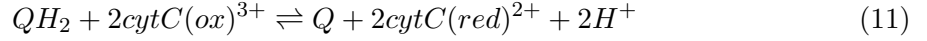
$$\Delta G_H = F\Delta\Psi + RT \ln\left(\frac{[H^+]_e}{[H^+]_x}\right) \quad (9)$$

kus  $F$  on Faraday konstant,  $\Delta\Psi$  membraani potentsiaal.  $H_e/H_x$  tähistavad väliskeskkonna ja maatriksi vahelise prootonite suhte. Võrranditega 8 ja 9 kirjeldatud reaktsiooni kiirused viivad kontsentratsioonid termodünaamilise tasakaalu suunas. Täpsemalt, voolu juhtimine toimub termokeemilise tasakaalu suunas, mis on määratletud efektiivse tasakaalu võrrandiga.

$$K_{eq,C1}(\Delta G_H) = \frac{e^{-(\Delta G_{C1} + 4\Delta G_H - RT \ln\left(\frac{[H^+]_x}{10^{-7}}\right))}}{RT} \quad (10)$$

### Complex III .

Keemiline reaktsioon :



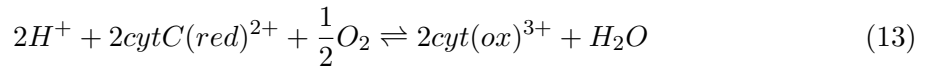
kus  $cytC(ox)^{3+}$  tähistasid oksüdeerunud vormi ja  $cytC(red)^{2+}$  tähistasid redutseerunud vormi. Nagu on näidatud (Joonisel 3A), eeldatakse, et tsütokroom-c on IMS-is. Kuigi selle reaktsiooni iga ühiku puhul pumbatakse läbi sisemembraani neli prootonit, on ülekantavate laengute koguarv kaks, mis tuleneb redoksülekandest ubikinoolilt tsütokroomile c, mis tekitab iga reaktsiooni käibe puhul kaks maatriksvesinikuiooni. Reaktsiooni kiirus läbi C3 on arvatud valemiga:

$$J_{C3} = X_{C3} \left( \frac{1 + \frac{[Pi]_x}{kP^{i_3}}}{1 + \frac{[Pi]_x}{kP^{i_4}}} \right) \left( \frac{e^{-(\Delta G_{C3} + 4\Delta G_H - 2F\Delta\Psi + RT \ln\left(\frac{[Q]}{[QH]_2}\right))}}{2RT} ([cytC(ox)^{3+}] - [cytC(red)^{2+}]) \right) \quad (12)$$

kus  $X_{C3}$  on reaktsioonikiirus,  $\Delta G_{C3}$  on vaba energia (redutseerimispotentsiaal).

### Complex IV .

Keemiline reaktsioon:



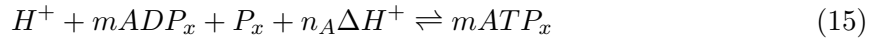
Järgnev valem võtab samuti arvesse, et kahe prootoni pumpamiseks on vaja nelja elektroni. Reaktsiooni kiirus oli arvatud kasutades järgmist valemit

$$J_{C4} = X_{C4} \left( \frac{1}{1 + \frac{k_{O2}}{[O_2]}} \right) \frac{cytC(red)^2}{cytC_{tot}} \left( \frac{e^{-(\Delta G_{C3} + 4\Delta G_H - 2F\Delta\Psi + RT \ln\left(\frac{[Q]}{[QH]_2}\right))}}{2RT} ([cytC(red)^{2+}] - e^{\frac{F\Delta\Psi}{RT}} [cytC(ox)^{3+}]) \right) \quad (14)$$

kus  $X_{C4}$  on reaktsiooni kiirus,  $\Delta G_{C4}$  on vaba energia ja  $cytC_{tot} = [cyt(ox)^{3+}] + [cytC(red)^{2+}]$  Kompleksi reaktsiooni kiirus on väljendatud kujul sarnaselt I ja III komplekside omadega, kuid ühe erinevusega. Erinevus seisnes täiendavas hapniku tarbimise korrutusfaktoris. Seda on tehtud selleks, et võtta arvesse hapniku tarbimise ja ATP tekkimise sõltuvust hapniku kontsentratsioonist.

### 3.7 ATP süntees

ATP sünteesiks on vaja  $mADP_x$  ja  $P_x$ .  $mADP_x$  fosforüleeritakse  $mATP_x$  -ks läbi  $ATP_{syn}$ -i järgmise reaktsiooni kaudu:



kus  $n_A$  on ühe reaktsiooni jaoks vajaminev prootonite arv. Kuna ATP süntees nõuab magneesiumi, siis selle kompleksi reaktsiooni kiirust modelleeritakse samuti läbi termodünaamiliselt tasakaalustatud arvutuse abil:

$$J_{F1} = X_{F1} \left( \frac{e^{-(\Delta G_{F1} - n_A \Delta G_H)}}{RT} \frac{K_{MgADP}}{K_{MgATP}} [mADP]_x [Pi]_x - (1M) [mATP]_x \right) \quad (16)$$

kus  $X_{F1}$  on reaktsiooni kiirus,  $\Delta G_{F1}$  on vaba energia,  $K_{MgATP}$  ja  $K_{MgADP}$  on tasakaalu dissotsiatsioonikonstandid ATP ja ADP magneesiumiga sidestumiseks.

### 3.8 Magneesiumi sidestumine

ATP ja ADP sidumine magneesiumioonide vahel toimub järgmiste valemite kaudu:

$$\begin{aligned} J_{MgATPe} &= ([fATP]_e [Mg^{2+}]_e - K_{MgATP} [mATP]_e) \\ J_{MgADPe} &= ([fADP]_e [Mg^{2+}]_e - K_{MgADP} [mADP]_e) \\ J_{MgATPi} &= ([fATP]_i [Mg^{2+}]_i - K_{MgATP} [mATP]_i) \\ J_{MgADPi} &= ([fADP]_i [Mg^{2+}]_i - K_{MgADP} [mADP]_i) \\ J_{MgATPx} &= ([fATP]_x [Mg^{2+}]_x - K_{MgATP} [mATP]_x) \\ J_{MgADPx} &= ([fADP]_x [Mg^{2+}]_x - K_{MgADP} [mADP]_x) \end{aligned} \quad (17)$$

$fATP$  ja  $fADP$  tähistavad ATP ja ADP kontsentratsioone, mis ei ole seotud magneesiumiooniga.  $mATP$  ja  $mADP$  tähistavad magneesiumiga seondunud liike. Parameeter  $X_{MgA}$  on edasise sidumise kiirus. Efektiivne dissotsiatsioonikonstant konstant on arvutatud nii, et see vastab tasakaalu dissotsiatsioonisuhetele ATP ja ADP sidumiseks Mg-ga.

ATP ja ADP algtingimused olid arvatud vastavalt järgnevatele valemitele :

$$\begin{aligned}
fADP_e &= \frac{[ADP]_e}{1 + \frac{[Mg^{2+}]_e}{K_{MgADP}}} \\
fADP_i &= \frac{[ADP]_i}{1 + \frac{[Mg^{2+}]_i}{K_{MgADP}}} \\
fADP_x &= \frac{[ADP]_x}{1 + \frac{[Mg^{2+}]_x}{K_{MgADP}}} \\
mADP_e &= \frac{[fADP]_e[Mg^{2+}]_e}{K_{MgADP}} \\
mADP_i &= \frac{[fADP]_i[Mg^{2+}]_i}{K_{MgADP}} \\
mADP_x &= \frac{[fADP]_x[Mg^{2+}]_x}{K_{MgADP}}
\end{aligned} \tag{18}$$

### 3.9 Substraadi transport

Substraatide  $fATP$ ,  $fADP$ ,  $mATP$ ,  $mADP$ ,  $AMP$  ja  $Pi$  difusiooni kiirus välise puhvri ja IMS+ vahel oli arvatud kasutades valemeid:

$$\begin{aligned}
J_{fATP} &= \gamma p_A ([fATP]_e - [fATP]_i) \\
J_{fADP} &= \gamma p_A ([fADP]_e - [fADP]_i) \\
J_{mATP} &= \gamma p_A ([mATP]_e - [mATP]_i) \\
J_{mADP} &= \gamma p_A ([mADP]_e - [mADP]_i) \\
J_{AMP} &= \gamma p_A ([AMP]_e - [AMP]_i) \\
J_{Pi} &= \gamma p_{Pi} ([Pi]_e - [Pi]_i)
\end{aligned} \tag{19}$$

kus järellide "e" tähistab välis puhvrit ja "i" tähistab IMS-i. Puhvrikontsentratsioonid on käsitletud konstantidena.  $p_A$  on adeniini nukleotiidide ATP,ADP ja AMP juhtivuse konstant ning  $p_{Pi}$  on Pi juhtivuse konstant.  $\gamma$  tähistab suhet mitokondri välismembraani pindala ja kardiomiotsüüdi kogu raku ruumala suhet.

Adeniini nukleotiiditranslokaas (ANT) reaktsioon vastutab ATP ja ADP ülekande eest ning töötab ainult magneesiumi vabavormiga,  $fATP$  ja  $fADP$ . Reaktsiooni keemiline valem on:



ning arvatud järgmise valemiga:

$$\begin{aligned}
J_{ANT} &= X_{ANT} \left( \frac{[fADP]_i}{[fADP]_i + [fATP]_i e^{\frac{-0.35F\Delta\Psi}{RT}}} - \frac{[fADP]_x}{[fADP]_x + [fATP]_x e^{\frac{-0.65F\Delta\Psi}{RT}}} \right) \\
&\quad \left( \frac{1}{1 + \frac{km_{ADP}}{[fADP]_i}} \right)
\end{aligned} \tag{21}$$

Anorgaanilise fosfaadi transport maatriksi ja IMS-i vahel on seotud vesinikioonigradiendiga. Eeldatakse, et  $H^+$  ja  $H_2PO_4$  transporditakse koos, kusjuures  $H^+$  ja  $H_2PO_4$  liiguvad koos üle membraani suhtega 1:1. Vesinik seondub anorgaanilise fosfaadiga järgmise reaktsiooni kaudu.



eeldatakse, et membraani mõlemad pooled on tasakaalus ehk

$$[H_2PO_4^-]_i = \frac{[H^+]_i [Pi]_i}{[H^+]_i + k_{dH}} \quad ja \quad [H_2PO_4^-]_x = \frac{[H^+]_x [Pi]_x}{[H^+]_x + k_{dH}} \quad (23)$$

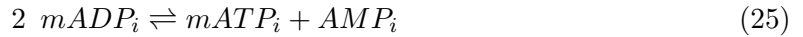
kus  $k_{dH}$  on reaktsiooni dissotsiatsioonikonstant. Fosfaadi ja vesiniku kootranspordi reaktsioonide kiirused on arvatud

$$J_{PiH} = X_{PiH} \left( \frac{[H_2PO_4^-]_i [H^+]_x - [H_2PO_4^-]_x [H^+]_i}{[H_2PO_4^-]_i + k_{PiH}} \right) \quad (24)$$

kus  $X_{PiH}$  on reaktsiooni kiirus,  $k_{PiH}$  on Michelis-Menteni konstant väljaspool membraani.

### 3.10 Adenülaatkinaas

Kõrge energiaga fosfaadid kantakse üle  $mATP_i$ ,  $mADP_i$  ja  $AMP_i$  vahel IMS-is adenülaatkinaasi (AK) reaktsiooni kaudu:



Adenülaatkinaasi reaktsiooni kiirus IMS-is arvutatakse järgmiselt:

$$J_{AK} = X_{AK} (K_{AK} [mADP]_i [mADP]_i - [AMP]_i [mATP]_i) \quad (26)$$

kus  $K_{AK}$  on tasakaalukonstant ja  $X_{AK}$  on reaktsiooni kiirus.

### 3.11 Katioon transport

Katiooni transporteid oli kolm. Magneesiumi-, vesinik- ja kaaliumioonide transporterid ning sealhulgas  $K^+/H^+$  antiporter. Vesinikuiooni leke läbi sisemembraani reaktsiooni kiirust on arvatud järgnevalt:

$$J_{Hle} = X_{Hle} \Delta \Psi \left( \frac{[H^+]_e e^{\frac{F\Delta\Psi}{RT}} - [H^+]_x}{e^{\frac{F\Delta\Psi}{RT}} - 1} \right) \quad (27)$$

Kaaliumi passiivset sissevoolu maatriksisse modelleeritakse järgmiselt:

$$J_K = X_K \Delta \Psi \left( \frac{[K^+]_e e^{\frac{F\Delta\Psi}{RT}} - [K^+]_x}{e^{\frac{F\Delta\Psi}{RT}} - 1} \right) \quad (28)$$

Eeldatakse, et kaaliumioonide väljavool maatriksist on seotud prootonite gradientidega ning on modelleeritud kasutades lihtsat pöörduvat antiporterit, mille reaktsiooni kiirus on arvu-

tatud massihulga kineetika valemiga

$$J_{KH} = X_{KH}([K^+]_e[H^+]_x - [K^+]_x[H^+]_e) \quad (29)$$

Eespool esitatud  $K^+$ - ja  $H^+$ - transpordi avaldised eeldavad, et need ioonid tasakaalustuvad kiiresti läbi välismembraani. Seetõttu eeldatakse, et IMS-i kontsentratsioonid on võrdsed välisruumi kontsentratsioonidega.

### 3.12 Mudeli parameetrid

#### 3.12.1 Kompartimentid ja reatsioonid

$N^\circ$	Nimi	Kirjeldus
Kompartiment		
1	EXTERNAL	Välisruum
2	IMS	Membraanide vaheline ruum
3	MATRIX	Maatriks
Kiirused		
1	$J_{DH}$	Dehüdrogenaas
2	$J_{C1}$	Complex I
3	$J_{C3}$	Complex III
4	$J_{C4}$	Complex IV
5	$J_{F1}$	ATPaas
6	$J_{MgADP_e}$	$ADP_e$ magneesiumiga sidestumine
7	$J_{MgADP_i}$	$ADP_i$ magneesiumiga sidestumine
8	$J_{MgADP_x}$	$ADP_x$ magneesiumiga sidestumine
9	$J_{MgATP_e}$	$ATP_e$ magneesiumiga sidestumine
10	$J_{MgATP_i}$	$ATP_i$ magneesiumiga sidestumine
11	$J_{MgATP_x}$	$ATP_x$ magneesiumiga sidestumine
12	$J_{fADP_e}$	$fADP_e$ difusioon IMS
13	$J_{fATP_e}$	$fATP_e$ difusioon IMS
14	$J_{mADP_e}$	$mADP_e$ difusioon IMS
15	$J_{mATP_e}$	$mATP_e$ difusioon IMS
16	$J_{AMP_e}$	$AMP_e$ difusioon IMS
17	$J_{P_i_e}$	$P_i_e$ difusioon IMS
18	$J_{ANT}$	Adeniini nukleotiidi translokaas
19	$J_{P_i_H}$	Fosfaadi ja vesiniku kootransport
20	$J_{AK}$	Adenülaat kinaas
21	$J_{H_l_e}$	Vesinik ionide leke
22	$J_K$	Kaalium ionide sissevool
23	$J_{KH}$	Kaalium ionide väljavool



### 3.12.2 Konstandid

$N^o$	Nimi	Kirjeldus	Väärtus	Ühik
1	$ADP_e$	ADP väliruumi kontsentratsioon	0.0013	$\frac{mol}{l}$
2	$ADP_i$	ADP IMS-i kontsentratsioon	0.0013	$\frac{mol}{l}$
3	$ADP_x$	ADP maatriks kontsentratsioon	0.001	$\frac{mol}{l}$
4	$ATP_e$	ADP väliruumi kontsentratsioon	0	$\frac{mol}{l}$
5	$ATP_i$	ADP IMS-i kontsentratsioon	0	$\frac{mol}{l}$
6	$ATP_x$	ADP maatriks kontsentratsioon	0.004	$\frac{mol}{l}$
7	$cytC_{tot}$	IMS-i tsütokroom c kontsentratsioon	0.0027	$\frac{mol}{l}$
8	$\Delta G_{C1}$	$J_{C1}$ vaba energia	-69.37	$\frac{kJ}{mol}$
9	$\Delta G_{C3}$	$J_{C3}$ vaba energia	-32.52	$\frac{kJ}{mol}$
10	$\Delta G_{C4}$	$J_{C4}$ vaba energia	-122.94	$\frac{kJ}{mol}$
11	$\Delta G_{F1}$	$J_{F1}$ vaba energia	36.03	$\frac{kJ}{mol}$
12	$\Delta \Psi$	Membraani potentsiaal	160	$mV$
13	F	Faraday konstant	0.096484	$\frac{kJ}{mol * mV}$
14	$\gamma_{PA}$	pindala difusiooni konstant raku ruumala suhtes	509.15	$\frac{l}{s}$
15	$\gamma_{PPi}$	pindala difusiooni konstant raku ruumala suhtes	1958.73	$\frac{l}{s}$
16	$k_{dH}$	$H_2PO_4$ dissotsiatsioonikonstant	1e-6	$\frac{mol}{l}$
17	$K_{MgADP}$	$Mg_{ADP}$ sidestumise konstant	3.47e-4	$\frac{mol}{l}$
18	$K_{MgATP}$	$Mg_{ATP}$ sidestumise konstant	2.4e-5	$\frac{mol}{l}$
19	$k_{O2}$	hapniku tarbimise konstant	1.2e-4	-
20	$k_{Pi1}$	DH parameeter	1.3413e-4	$\frac{mol}{l}$
21	$k_{Pi2}$	DH parameeter	6.7668e-4	$\frac{mol}{l}$
22	$k_{Pi3}$	Fosfaadi parameeter C3 reaktsioonis	1.9172e-4	$\frac{mol}{l}$
23	$k_{Pi4}$	Fosfaadi komponent C3 reaktsioonis	0.02531	$\frac{mol}{l}$
24	$k_{PiH}$	PiH parameeter	4.5082e-4	$\frac{mol}{l}$
25	$k_{mADP}$	ANT Michaelis-Menten konstant	3.5e-6	$\frac{mol}{l}$
26	$NAD_{tot}$	Kogu maatriksi NAD(H) kontsentratsioon	0.00297	$\frac{mol}{l}$
27	$Q_{tot}$	Kogu maatriksi Q kontsentratsioon	0.00135	$\frac{mol}{l}$
28	r	DH parameeter	4.5807	-
29	$r_{buff}$	Maatriksruumi puhvermaht	4.253	-
30	RT	absoluutse temperatuuri gaasi konstant	2.4734	$\frac{kJ}{mol}$
31	$X_{AK}$	AK reaktsiooni kiirus	2.5e-7	$\frac{l^2}{s * mol}$
32	$X_{ANT}$	ANT reaktsiooni kiirus	0.0079204	$\frac{mol}{s}$
33	$X_{C1}$	C1 reaktsiooni kiirus	0.36923	$\frac{l}{s}$
34	$X_{C3}$	C3 reaktsiooni kiirus	0.02293425	$\frac{l}{s}$
35	$X_{C4}$	C4 reaktsiooni kiirus	3.2562e-5	$\frac{l}{s}$
36	$X_{DH}$	DH reaktsiooni kiirus	0.09183	$\frac{l}{s}$
37	$X_{F1}$	F1 reaktsiooni kiirus	150.93	$\frac{s * mol}{l^2}$
38	$X_{Hle}$	Hle reaktsiooni kiirus	250	$\frac{s * mV}{l^2}$
39	$X_{KH}$	KH reaktsiooni kiirus	29802000	$\frac{s * mol}{l^2}$
40	$X_{MgA}$	Mg reaktsiooni kiirus	1000000	$\frac{s * mol}{l^2}$
41	$X_{PiH}$	PiH reaktsiooni kiirus	339430	$\frac{l}{s}$
42	$X_{k_{AK}}$	AK reaktsiooni kiiruse tasakaalu konstant	1.08275e-7	$\frac{l^2}{s * mol}$
43	$X_{k_{MgADP}}$	Mg reaktsiooni sidestumise konstant	347	$\frac{l}{s}$
44	$X_{k_{MgATP}}$	Mg reaktsiooni sidestumise konstant	24	$\frac{l}{s}$

## 4 Modelleerimise tarkvara

Antud peatükis keskendun tarkvara otsingule, mida edaspidi kasutan modelleerimiseks. Annan põhjalikuma ülevaate tarkvara maastikust, valiku kriteeriumitest ja oma eelistustest tarkvara osas.

### 4.1 Maastik

Vajalik oli esialgne üldine ülevaade vabavara programmide, enne, kui minna nende funktsionaalsuse ja võimekuse juurde. Hea vabavara ülevaate andis loend, mis oli saadaval wikipediast “List of system biology modeling software“ ja CellML kodulehel [4][5]. Wikipedia loendis oli esindatud 22 tarkvaraprogrammi, koos selle põhisuuna kirjeldustega. Samuti tabelite näitel oli eraldi välja toodud nii tarkvara kui ka nende märgistuskeeled, andmete impordi ja ekspordi võimalused, kasutajaliidese olemasolu ning funktsionaalsuse ja analüüsi võimalused.

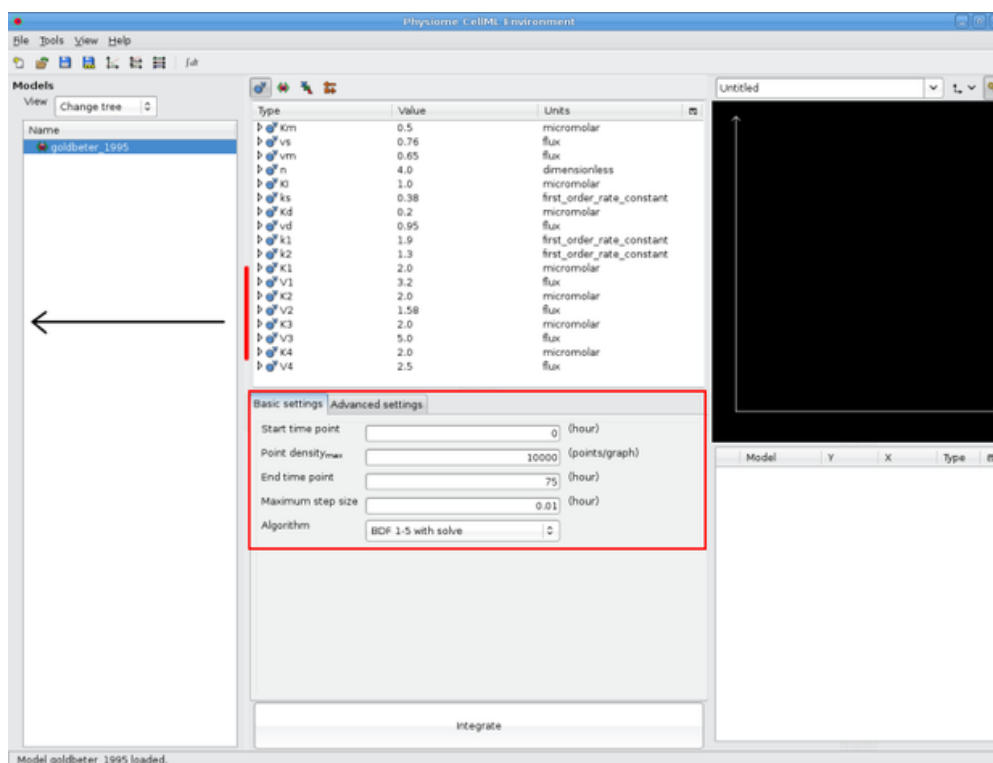
Järgnevalt oli vaja kitsendada esindatud tarkvara valiku. Kuna antud töö üks eesmärkidest oli vähendada modelleerimisel programmeerimise osakaalu, siis tarkvara võiks piirduda mugava andmesisestusega, mis eeldab kasutajaliidese olemasolu. Tarkvara pidi suuteline olema kirjeldama selliseid sektioone nagu näiteks: kompartment, kontsentratsioonid, reaktsioonid, valemid ja analüüsimeetodid. Märgistuskeel pidi olema teadlaste seas levinud ning otsitav programm pidi kindlasti olema pidevalt uuendatud. Suureks eeliseks oleks ulatuslik kasutajaskond. Meie puhul tarkvara pidi keskenduma reaktsioonide kineetikale.

Levinud märgistuskeele kasutuselevõtt oli väga tähtsaks küsimuseks. Märgistuskeele valik on tähtis seetõttu, et see määrab, kuidas me edastame informatsiooni biofüüsiliste mudelite kohta. Biofüüsiliste mudelite puhul, sobiv märgistuskeele valik võib hõlbustada mudeli konverteerimist erinevate platvormide või tarkvararakenduste vahel ning tagada mudeli pikemaajalise kasutatavuse [6]. Lisaks laialt kasutatav märgistuskeel aitaks standardiseerida mudelite kirjeldamist, võimaldades erinevatel uurijatel või arendajatel mõista ja suhelda mudelite üle ühtsel viisil. See võib suurendada koostööd, võimaldades teadlastel või arendajatel üle maailma jagada ja ühendada oma teadmisi ning luua ühtsemaid ja usaldusväärsemaid biofüüsilisi mudeleid. Tänapäeval kõige levinumad on CellML ja SBML. Kuigi ka siin oli märgistuskeelte nimekiri üpriski lai. Mõningaid näiteid teistest märgistuskeelte tüüpidest: BioPAX, XPP, VCML [7]. SBML on süsteemibioloogia märgistuskeel (System Biology Markup Language), mis põhineb XML esitusformaadil, bioloogiliste protsesside arvutuslike mudelite edastamiseks ja salvestamiseks [8]. Antud faili formaati on võimalik keskkonnas valmis kirjutada ning edaspidi vajadusel analüüsi või simulatsiooni teostada kasutades selliseid programmeerimiskeeli nagu Python või MatLab.

## 4.2 Tarkvara ülevaade

### 4.2.1 OpenCell

OpenCell on tarkvara, mis on spetsiaalselt loodud töötamiseks CellML mudelitega. Selle abil saab modelleerida ja simuleerida bioloogilisi protsesse ja füsioloogiat, sealhulgas rakutasandil (Joonis 4). OpenCell pakub võimalust uurida mudeli reaktsioone ja protsesse enne nende



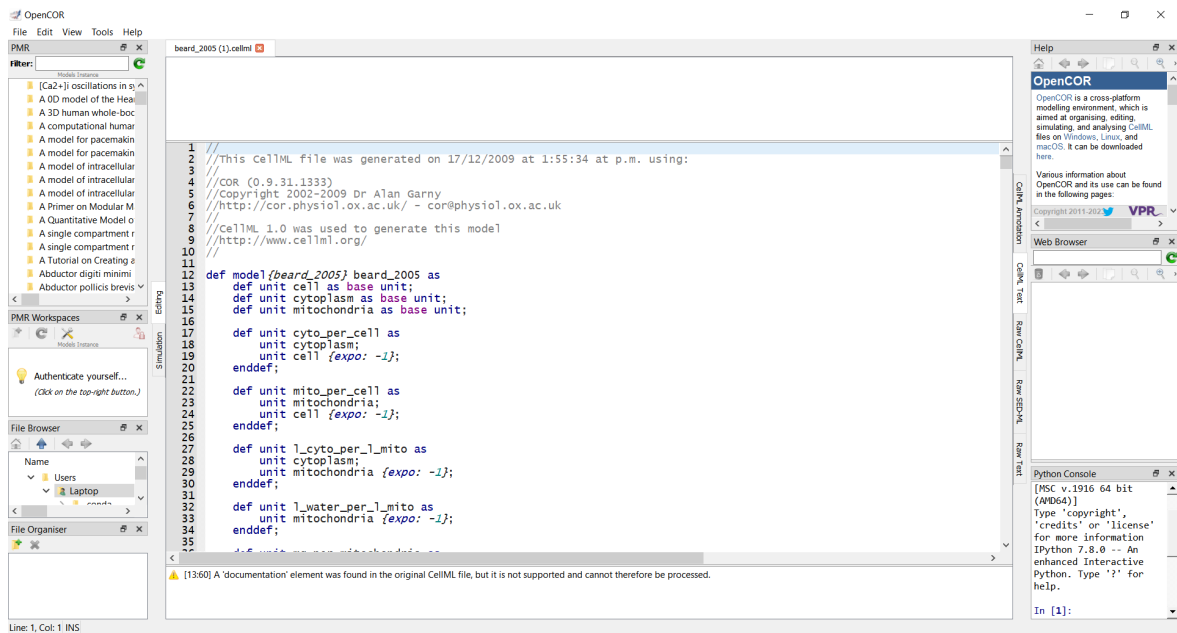
Joonis 4: OpenCell kasutajaliides [9]

simuleerimist ning töötab CellML failiformaadiga, mis võimaldab mugavat ühilduvust teiste mudelitega. OpenCell võimaldab ka ModelicaML keele kasutamist füüsikaliste süsteemide matemaatiliste mudelite kirjeldamiseks.

Antud tarkvara üldist struktuuri ja reaktsioonide koostamise käiku oli väga raske mõista. Analüüsi teostamiseks oli esindatud ainult kolm meetodit ning graafiline kujutamine oli võimalik ainult 2D ploti näol. Keskkond ei toetanud SBML märgistuskeelt, kuid oli teadlaste seas levinud. Tarkvara oli viimane kord uuendatud aastal 2010 oktoobris ning ei läinud esialgu tööle. Tarkvara edasine uurimine ei ole otstarbeline kuna töökeskkonna arendamist ja toetamist lõpetati ning asemele tuli OpenCOR [10].

### 4.2.2 OpenCOR

OpenCOR on tarkvara, mis on mõeldud bioloogiliste protsesside modelleerimiseks ja simulatsioonide läbiviimiseks (Joonis 5).



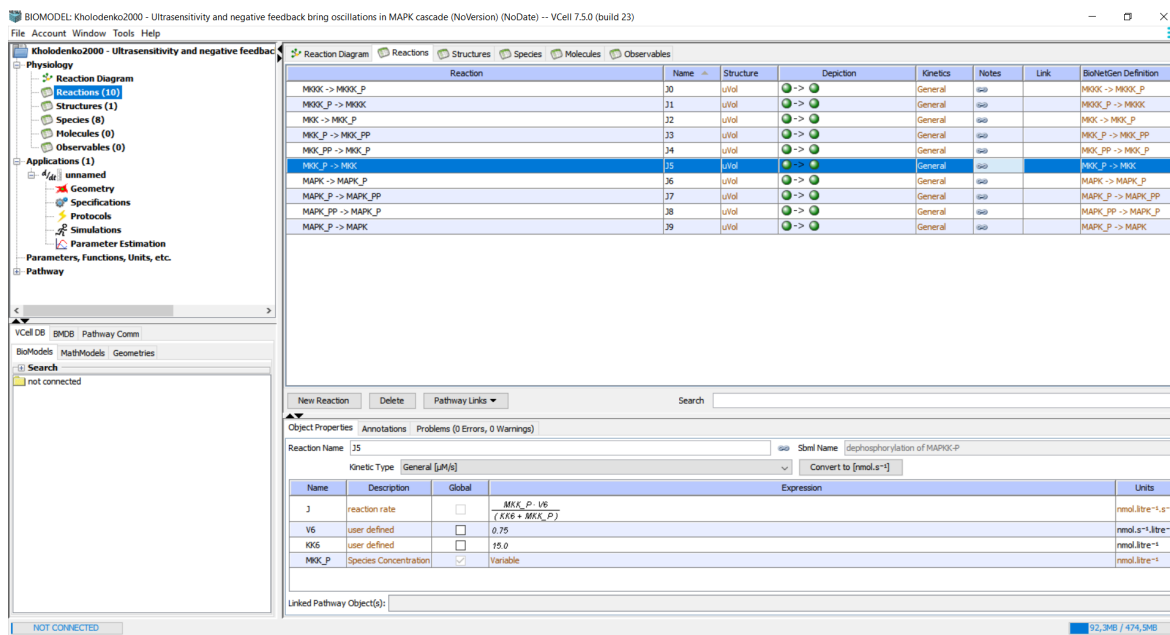
Joonis 5: OpenCOR kasutajaliides

Samuti on seal võimalik uurida ka rakutasandil dünaamikat. Antud tarkvara pakkus huvi eelkõige sellepärast kuna toetas faili formaati, milles oli kirjutatud mudel, mida tahtsime modelleerida. See andis meile võimaluse eelnevalt tutvuda mudeli reaktsioonide ja protsessidega. OpenCOR koosneb kahest plokist ModelicaML ja CellML. ModelicaML – tarkvaras kasutatav keel, mis võimaldab kirjutada matemaatilisi mudeleid füüsikaliste süsteemide kirjeldamiseks. CellML – on spetsiaalne keel, mis võimaldab kirjeldada bioloogilisi protsesse matemaatiliste mudelite abil. Selles keeles on samuti võimalik kirjeldada erinevaid protsesse erinevatel tasanditel [11].

Antud tarkvaras, toimus mudeli kirjeldamine kasutades uut programmeerimise keelt, mis eeldas selle õppimist ning raskendas kohese alustamise. Struktuuri ülesehitus oli samuti mitte kõige loogilisem, kuid mitte harjumatu. Keskkond eeldas koodipõhise andmete ja reaktsioonide sisestuse, mis juhedajaga kokkulepitud eelistuste järgi ei sobinud. Tarkvara oli viimane kord uuendatud aastal 2023 Veebruaris [11].

#### 4.2.3 Virtual Cell

VCell koosneb kolmest plokist BioModel, MathModel ja Geometry [12]. BioModel - mugav graafiline kasutajaliidese keskkond, kus on võimalik defineerida muutujad, reaktsioonid ja struktuuri. Mathmodel – matemaatiline keskkond, mis määrab matemaatilise mudeli kirjelduse, mis on automaatselt genereeritud BioModel kaudu või kodeeritud VCell Markup Language (VCML) abil. Geometry – graafilise kujutuse keskkond, mis võimaldab tekitada 1D, 2D ja 3D kujutisi vastavalt, kas BioModel või Mathmodel defineerimisel (Joonis 6).



Joonis 6: Virtual Cell kasutajaliides

Virtual Cell võimaldab uurijatel uurida keerulisi bioloogilisi süsteeme ning analüüsida nende käitumist ja omadusi. Platvorm toetab interdistsiplinaarset uurimistööd, aidates süvendada arusaamist rakutasandil toimuvatest protsessidest ja nende mõjust organismidele.

Tarkvara pakub graafilist kasutajaliidest, mille ülesehitus on kergesti mõistetav ja loogiline. Tarkvara struktuuri ülesehitus võimaldas eraldi defineerida loodava süsteemi seksioone, mida oli kerge jälgida ning vajadusel muudatusi teha. Tarkvara oli viimane kord uuendatud aastal 2021 märts.

#### 4.2.4 COPASI

COPASI on matemaatiliste mudelite koostamise, simulatsiooni ja analüüsi tarkvara, mis on loodud süsteemibioloogiliste protsesside uurimiseks (Joonis 7) [13].

Mitochondrial Respiratory System7 - COPASI 4.39 (Build 272) C:/Users/.../UT vargid/Mitochondrial Respiratory System7.cps

File Edit Tools Window Help

Concentrations

COPASI

- Model
  - Biochemical
    - Compartments [3]
    - Species [30]
    - Reactions [23]
    - Global Quantities [55]
    - Events [0]
    - Parameter Overview
    - Parameter Sets [0]
  - Mathematical
    - Differential Equations
    - Matrices
    - Diagrams
  - Tasks
    - Steady-State
    - Stoichiometric Analysis
    - Time Course
    - Metabolic Control Analysis
    - Lyapunov Exponents
    - Time Scale Separation Analysis
    - Cross Section
    - Parameter Scan
    - Optimization
    - Parameter Estimation
    - Sensitivities
    - Linear Noise Approximation
    - Time Course Sensitivities
  - Output Specifications
    - Plots [1]
    - Report Templates [11]
    - Functions [48]
    - Units [37]

Search:

#	Name	Reaction	Rate Law	Flux [mol/s]	Noise Expression
1	J_AK	$2 * mADPi = mATPi + AMPi$	Mass action (reversible)	nan	
2	Diff J_AMP	$AMPe = AMPi$	Mass action (reversible)	nan	
3	J_ANT	$fATPx + fADPi = fADPx + fATPi$	J_ANT	nan	
4	J_C1	$Hx + NADH + Q = QH + NAD$	J_C1	nan	
5	J_C3	$Hx + QH + 2 * C(ox) = 2 * C(red) + Q$	J_C3	nan	
6	J_C4	$Hx + 2 * C(red) = 2 * C(ox)$	J_C4	nan	
7	J_F1F0	$Hx + mADPx + Pi_x = mATPx$	J_ATP	nan	
8	Diff J_fADP	$fADPe = fADPi$	Mass action (reversible)	nan	
9	Diff J_fATP	$fATPe = fATPi$	Mass action (reversible)	nan	
10	J_Hle	$He = Hx$	J_K_HLe	nan	
11	J_K	$Ke = Kx$	J_K_HLe	nan	
12	J_KH	$Ke + Hx = Kx + He$	Mass action (reversible)	nan	
13	J_Mg_ADPI	$Mgi + fADPi = mADPi$	Mass action (reversible)	nan	
14	J_Mg_ADPx	$Mgx + fADPx = mADPx$	Mass action (reversible)	nan	
15	J_Mg_ATPx	$Mgx + fATPx = mATPx$	Mass action (reversible)	nan	
16	J_Mg_ATPi	$Mgi + fATPi = mATPi$	Mass action (reversible)	nan	
17	Diff J_Pi	$Pi_e = Pi_j$	Mass action (reversible)	nan	
18	J_PiH	$Pi_i + Hx = Pi_x + He$	J_PiH	nan	
19	J_DH	$NAD = NADH$	J_DH	nan	
20	Diff J_mADP	$mADPe = mADPi$	Mass action (reversible)	nan	
21	Diff J_mATP	$mATPe = mATPi$	Mass action (reversible)	nan	
22	J_Mg_ATPe	$Mge + fATPe = mATPe$	Mass action (reversible)	nan	
23	J_Mg_ADPe	$Mge + fADPe = mADPe$	Mass action (reversible)	nan	
	New Reaction				

Joonis 7: COPASI kasutajaliides

See võimaldab koostada ja analüüsida erinevaid bioloogilisi võrgustikke, sealhulgas metaboolseid ja signaaliradasid. COPASI on varustatud kasutajasõbraliku graafilise kasutajaliidese, mis võimaldab mudelite loomist, simuleerimist ja tulemuste visualiseerimist. Tarkvara võimaldab ka rakendada erinevaid matemaatilisi analüüse, näiteks parameetri optimeerimist ja statistilist analüüsi. Samuti nagu VCell COPASI pakub graafilist kasutajaliidest, mille ülesehitus on kergesti mõistetav ja loogiline. Tarkvara struktuuri ülesehitus võimaldas eraldi defineerida loodava süsteemi sektsioone, mida oli kerge jälgida ning vajadusel muudatusi teha. Üks COPASI peamisi eeliseid on selle laialdane kasutajaskond ning kasutaja foorum. Tarkvara oli viimati uuendatud 2023 jaanuaris. COPASI on laialdaselt kasutusel süsteemibioloogia valdkonnas ja seda kasutavad teadlased, kes uurivad bioloogilisi protsesse.

### 4.3 Tarkvara kokkuvõte

Tutvudes ja analüüsidest vabavara, tekkisid meil kindlad kriteeriumid, mida peaks omama tarkvara, et edaspidine modelleerimis töö oleks võimalikult mugav, loogiline ja arusaadav. Tarkvara pidi toetama süsteemi defineerimist sektsioonideks. Samuti erinevaid graafilisi kujutusi ja analüüsimeetodid. Märgistuskeel pidi olema teadlaste seas levinud. Otsitav programm pidi kindlasti olema tänasepäevani uuendatud. Ning keskenduma reaktsiooni kineetikale.

Kriteeriumite põhjal kõige paremini sobis ainult kaks vabavara, COPASI ja VirtualCell. Tarkvara ülevaates vaatasime ka natukene lähemalt OpenCell ja OpenCOR, mis meile ei sobinud. OpenCell, tarkvara edasine uurimine ei olnud otstarbeline seoses projekti sulgemisega. Selle

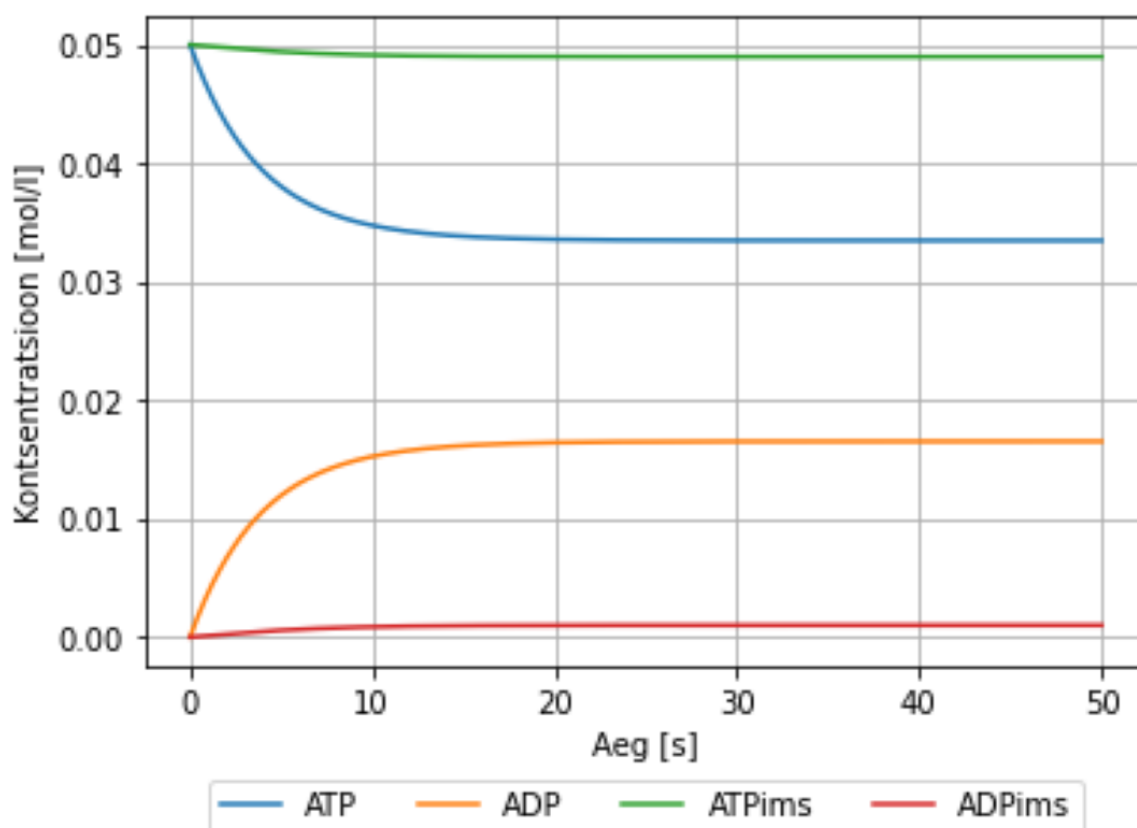
aselele tuli OpenCOR, kuid ka see meile ei sobinud kuna kasutas uut programmeerimiskeelt. COPASI ja VirtualCell tarkvara projektid osutusid parimateks kandidaatideks täites kõiki meie poolt etteantud kriteeriume.

Lõppvalik osutus COPASI kasuks. Vaatamata sellele, et VirtualCell ja COPASI teevad koostööd tarkvara arenduse osas ning omavad sarnaseid, uurimis- ja analüüsimeetodeid. VirtualCell oli viimati uuendatud kaks aastat tagasi ning põhirõhk oli ruumiliste aspektide uurimisel. COPASI osutus valituks kuna omas arusaadavama struktuuri ülesehituse, oli tänase päevani uuendatud ja keskendus eelkõige reaktsiooni kineetikale. Samuti ei saa mainimata jätta, et COPASI kasutajaliides on palju meeldivam, kasutuses mugavam ja tänapäevasem, kui VirtualCell-i oma.

## 5 Tulemused

### 5.1 Mudel 1 tulemused

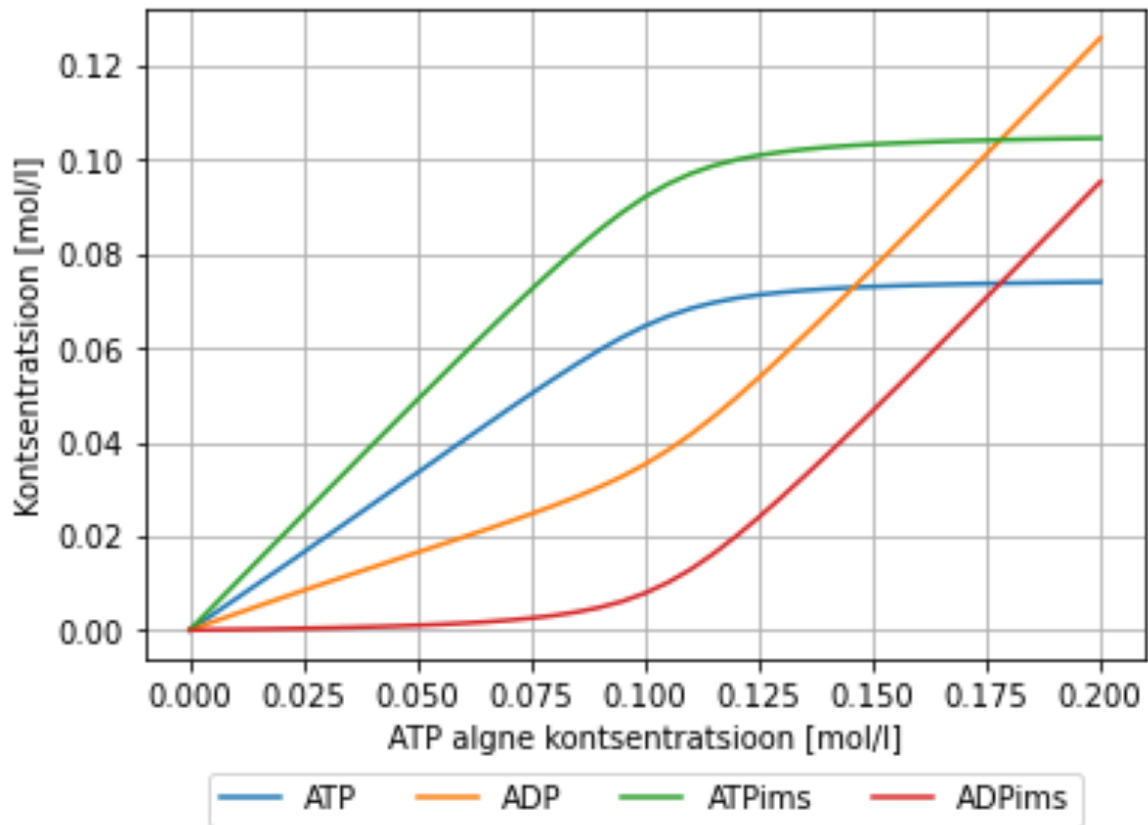
Kontsentratsioonide muutus ajas on oluline aspekt modelleerimises, eriti süsteemide ja protsesside kirjeldamisel. Graafikul on kujutatud kontsentratsioonide muutus ajas (Joonis 8). Esiälgu süsteemis on väga suur ATP kontsentratsioon ning väga vähe ADP-d. Minnes tagasi (Joonis 2) juurde näeme, et esimesena toimub ATP tarbimine ATPase poolt kuna ATP süntees ehk ATPsyn vajab ADP sissevoolu IMS-i, et ATP süntees saaks alata. ATPims ja ADPims näeme graafikult nii madala joontena kuna ATP sünteesi Michaelis-Menteni tasakaalu konstant ( $K_{syn}$ ) on kordades suurem võrreldes ATP tarbija Michaelis-Menteni tasakaalu konstandiga ( $K_{ase}$ ). Graafikul näeme samuti difusiooni protsessi ja ATP sünteesi ning tarbimise vahelise seose, kui ADP ja ADPims ning ATPims ja ATP kontsentratsiooni vahena. Seejärel kontsentratsioonid stabiliseeruvad ning süsteem jõuab statsionaarse olekusse. Edasi vaatame süsteemi statsionaarse oleku käitumist otspunktides (Joonis 9).



Joonis 8: Antud graafikul on näha, kuidas aja jooksul kontsentratsioonid stabiliseeruvad ning süsteem jõuab statsionaarsesse olekusse (Steady-State).



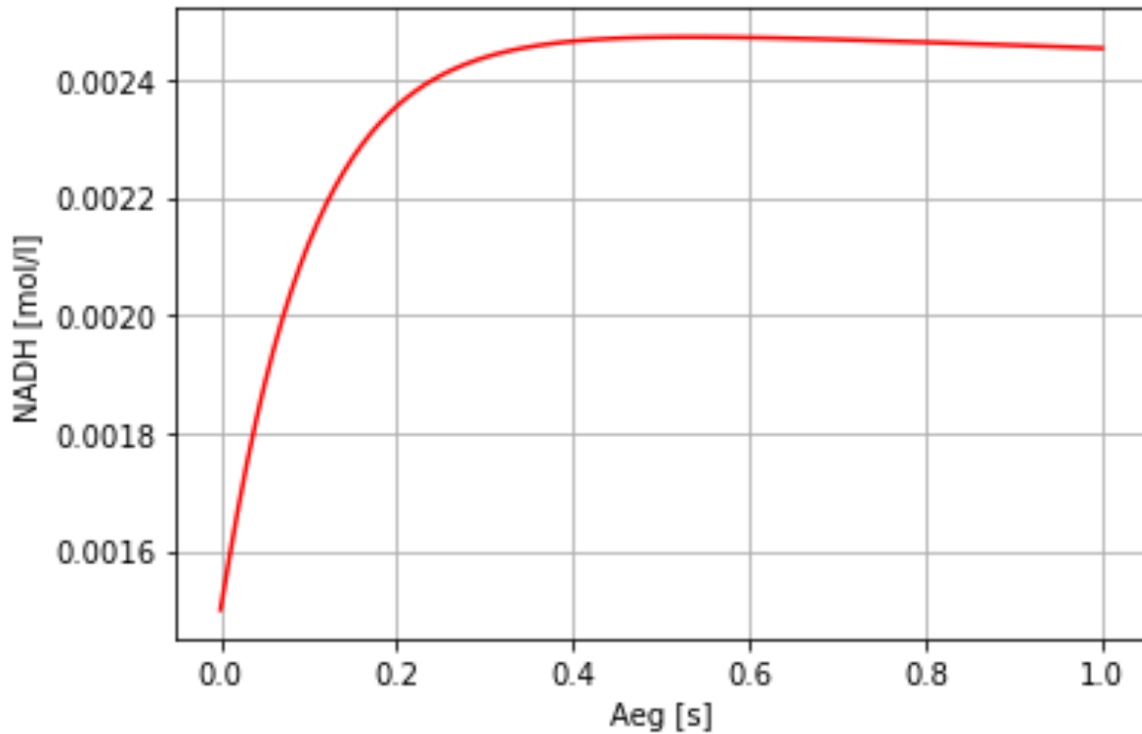
Graafikul on kujutatud algse ATP muuduga kaasnev statsionaarse oleku kontsentratsioonide muut (Joonis 9) . Algse ATP null kontsentratsiooni juures on kogu süsteemi kontsentratsioonid muutumatud ning omavad väärtuseks samuti null. Algse ATP kontsentratsiooni tõstes näeme, kuidas statsionaarses olekus olev süsteem käitub ning seda kontsentratsioonide muutuste näol.



Joonis 9: Graafik on arvutatud kasutades süsteemi statsionaarset olekut(Steady-State), mis kirjeldab süsteemi käitumist sõltuvalt algse ATP kontsentratsiooni muutusest.

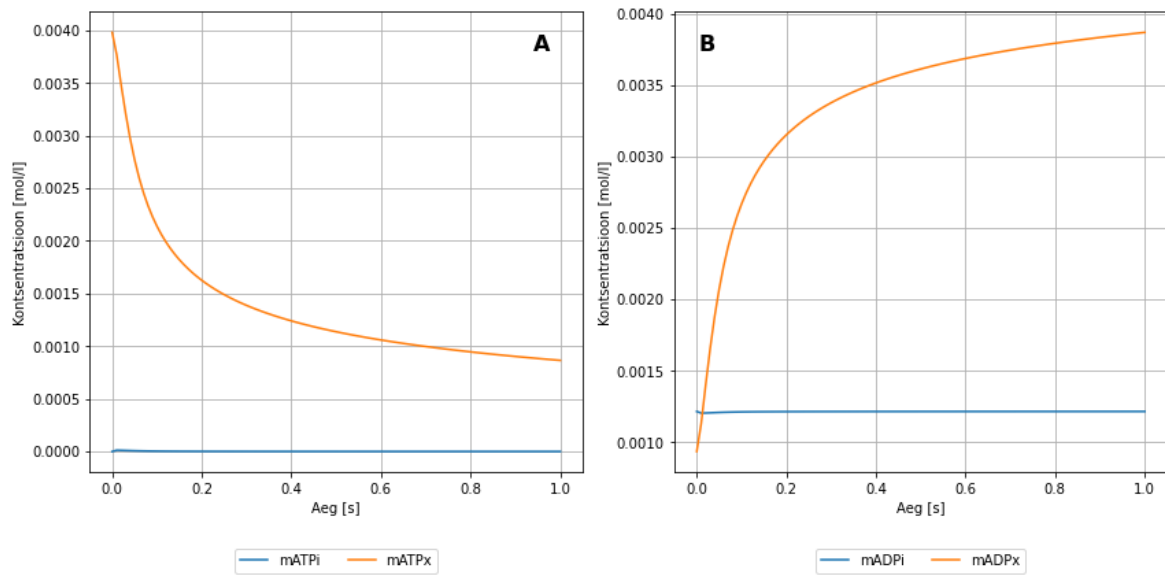
## 5.2 D.A.Beard'i mudeli tulemused

Garaafikul on kujutatud NADH kontsentratsiooni muutus ajas (Joonisel 10). Süsteemis on meil esialgu vähe NADH-d, et tagada C1 reaktsiooni hõlpsa töö. Tänu DH reaktsioonile näeme graafikul NADH kontsentratsiooni tõusu ning seejärgse stabiliseerumise tänu C1 reaktsiooni aktivatsioonile. Protsessi käigus DH reaktsioon tekitab NAD-st NADH, mida kantakse C1 kompleksisse, kus NADH oksüdeerub tekitades NAD. Tsükkel kordub seni kuni jõuab stabiilsesse olekusse.



Joonis 10: Garaafikul on kujutatud NADH kontsentratsiooni muutus ajas ning selle stabiliseerumine

Joonis 11A ja 11B on kujutatud  $mATP_x$  ja  $mADP_x$  kontsentratsioonide muutused ajas. Praeguse seisuga (Joonisel 11A) näeme  $mATP_x$  kontsentratsiooni languse ning (Joonisel 11B)  $mADP_x$  kontsentratsiooni tõusu. Antud situatsioon viitab sellele, et ATP süntees just kui tarbiks ATP-d, mitte sünteesiks seda. Hetkel kõik viitab sellele, et mudelis esineb tuvastamata vigu. Antud bakalaureusetöö raames ei jõudnud mudeli lõpule viia, kuid seda on kavas parandada tulevikus.



Joonis 11: (A) Kujutab mATP IMS ja matrix ruumi kontsentratsioonide muutusi ajas. (B) Kujutab mADP IMS ja matrix ruumi kontsentratsioonide muutusi ajas.

## 6 Arutelu

Antud lõigus tahaksin lähemalt arutada antud töö potentsiaali, tehtud muudatusi ja D.A.Beard'i artiklit. D.A.Beard'i artiklis kirjeldatud mudel annab väga hea ülevaate protsessidest, kuid seda analüüsides ja võrreldes konstantide väärtusi konverteeritud mudelitega leidsime vigu. Artiklis oli toodud, et  $K_{MgADP}$  ja  $K_{MgATP}$  on sama väärtusega, mis ei vasta eksperimentaal andmetele [14]. Suureks küsimuseks jäi kaaliumi ionide sissevoolu reaktsiooni kiiruse väärtus, milleks oli 0. Ning "fenomenoloogiline" fosfori aktivatsiooni korrutustegur reaktsioonides C1 ja C3. Samuti kahtlaseks jäid kompartmentide ruumalad, neid me asendasime väärtustega artiklist [14]. Antud mudeli suure mahu tõttu ei jõudnud kõiki toimuvaid protsesse põhjalikult uurida ning esinevaid vigu parandada. Tehtud töö põhjal võib nüüdsest keskenduda ainult süsteemi uurimisele ning jätkata antud tööga magistriõppes.

Kõige esimene tuleviku suund oleks antud mudel õigesti tööle saada kuna põhi on juba all. Selle jaoks tuleks igat reaktsiooni veelikord eraldi läbi uurida. Seejärel vead ära parandada. Seejärel võib antud mudeli arendamist jätkata lisades tsitraaditsükli ja Kompleks II reaktsiooni.

Kui kunagi pekas tekkima vajadus uurida mingi süsteemi ruumilisi aspekte, siis leitud keskkond (COPASI) sobib ideaalselt, et väljatöötada mudel ning seejärel eksportida seda Virtual Cell keskkonda järgnevateks uuringuteks.

Usun, et antud tööd võib edaspidi arendada ja rakendada õpi eesmärkidel, teadus töö tegemisel. See kindlasti aitaks parandada ja kiirendada alustavate ja tegutsevate biofüüsikute ja bioloogide teooria baastadmiste saamist, mõistmist ja rakendamist antud valdkonnas, kus informatsioon on ühes kohas ning kergesti mõistetav. Kindlat protsessi oleks võimalik nii kiiresti kui ka kergesti graafiliselt kujutada ning vaadata ka selle erijuhte.

## 7 Kokkuvõte

Bakalaureusetöö eesmärgiks oli leida vabavara ning kasutades seda modelleerida mitokondriaalseid protsesse. Valitud tarkvara pidi tagama, et modeleerimise käigus põhiohk säiliks eelkõige toimuvate protsesside sisule mitte oskusele neid programmeerida.

Valitud tarkvaraks osutus COPASI. COPASI on varustatud kasutajasõbraliku graafilise kasutajaliidesega ning omab ulatuslike analüüsi meetodeid ja graafikalise kujutuse võimalusi. Samuti on keskkond pidevalt uuendatud ning laialdaselt kasutuses eelkõige teadustöös.

Tarkvara katsetamiseks olime loonud esialgu triviaalse mudeli „Mudel 1“ kuna tulemused ja käitumine olid kergesti aimatavad. Tänu sellele saime suurema ülevaate funkionaalsusest ja võimekusest. Järgmevalt proovisime taastada artikli põhise D.A.Beard'i mudeli teaduslikel eesmärkidel, mille tulemused olid meile samuti aimatavad.

Mudeli kompleksuse ja mahu pärast ei suutnud autor kõiki toimuvaid protsesse põhjalikult uurida ning D.A.Berad'i tulemusteni jõuda. Püstitatud eesmärkidest võib täidetuks pidada vabavara leidmist. Samuti ka tutvuda nii mitokondriaalse mudeli protsesside energeetikaga kui ka mudeli iseendaga.

## Annotatsioon

The aim of the thesis was to find open-source modelling software and use it to model basic mitochondrial processes. The chosen software had to ensure that the modelling process would focus on the content of the processes rather than on the ability to program them.

COPASI is equipped with a user-friendly graphical user interface and has extensive analysis methods and graphical representation capabilities. It is also regularly updated and widely used, particularly in research.

To test the software, we had initially created a trivial model, "Model 1", since its results and behavior were known to us beforehand. This gave us a better insight into functionality and performance. Next, we tried to recreate the article-based D.A.Beard model for scientific purposes, the results of which were also known to us.

Due to the complexity and volume of the model, the author was not able to thoroughly investigate all the processes involved and arrive at the results of D.A.Beard. Of the objectives set, the finding of open-source software can be considered to have been achieved. Also to get acquainted with the energetics of the processes of the mitochondrial model as well as with the model itself.

## Tänuavaldus

Uurimistööd on osaliselt finantseerinud Eesti Teadusagentuur (PRG1127).

## Kasutatud kirjandus

- [1] Daniel A Beard. “A biophysical model of the mitochondrial respiratory system and oxidative phosphorylation”. *PLoS computational biology* 1.4 (2005), e36.
- [2] Robert F Schmidt, Gerhard Thews, Florian Lang *et al.* *Inimese füsioloogia*. Köide 24. Tartu, 1997.
- [3] F-Nora Vögtle *et al.* “Intermembrane space proteome of yeast mitochondria”. *Molecular & Cellular Proteomics* 11.12 (2012), lk. 1840–1852.
- [4] *List of systems biology modeling software*. URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_systems\\_biology\\_modeling\\_software](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_systems_biology_modeling_software).
- [5] *Modeling environments*. URL: <https://www.cellml.org/tools/modeling-environments>.
- [6] *Converters*. URL: <https://synonym.caltech.edu/software/converters/>.
- [7] Vijayalakshmi Chelliah, Camille Laibe ja Nicolas Le Novère. “BioModels database: a repository of mathematical models of biological processes”. *In Silico Systems Biology* (2013), lk. 189–199.
- [8] Michael Hucka *et al.* “The systems biology markup language (SBML): a medium for representation and exchange of biochemical network models”. *Bioinformatics* 19.4 (2003), lk. 524–531.
- [9] *OpenCell kasutajaliides*. URL: <https://www.cellml.org/getting-started/tutorials/simulations-and-sessions-in-opencell>.
- [10] *OpenCell*. URL: <https://www.cellml.org/tools/downloads/opencell>.
- [11] Alan Garny ja Peter J Hunter. “OpenCOR: a modular and interoperable approach to computational biology”. *Frontiers in physiology* 6 (2015), lk. 26.
- [12] Ion I Moraru *et al.* “Virtual Cell modelling and simulation software environment”. *IET systems biology* 2.5 (2008), lk. 352–362.
- [13] Frank T Bergmann *et al.* “COPASI and its applications in biotechnology”. *Journal of biotechnology* 261 (2017), lk. 215–220.
- [14] Marko Vendelin, Olav Kongas ja Valdur Saks. “Regulation of mitochondrial respiration in heart cells analyzed by reaction-diffusion model of energy transfer”. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 278.4 (2000), lk. C747–C764.