

# Softwarewerkzeuge der Bioinformatik

Prof. Dr. Volkhard Helms

Saarland University

PD Dr. Michael Hutter, Kerstin Reuter, Daria Gaidar

Department of Computational Biology

Wintersemester 2017/2018

## Tutorial 10

18. Januar 2018

Tutoren: Lea Eckhart, Markus Dillmann

## Copasi

Im heutigen Tutorial geht es um die Modellierung von biochemischen Reaktionen mittels DGL-Modellen mit dem Tool Copasi. Schauen Sie sich bitte die erste Hälfte von den Folien der Mendes group an, IntroCopasi.pdf auf der Vorlesungsseite. Für weitere Hilfestellung siehe auch <http://copasi.org/Support/>.

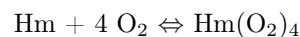
Das Programm kann mit

```
/home/stud/dabiku/Tutorial_Copasi/bin/CopasiUI
```

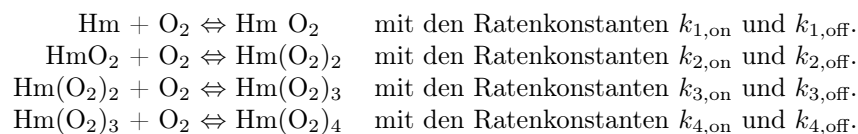
gestartet werden.

### Exercise 10.1: Das Modell

Das Tutorial beschäftigt sich mit dem in der Vorlesung angesprochenen Unterschied zwischen einer expliziten Modellierung und der Simulation mittels vereinfachter Kinetiken. Hier untersuchen wir die kooperative Bindung mehrerer Metabolite an ein Enzym. Ein "Lehrbuch"-Beispiel hierzu ist die kooperative Bindung von vier O<sub>2</sub>-Molekülen an ein Hämoglobin:



An diesem System wurde die inzwischen so genannte Hill-Kinetik eingeführt. Diese gleichzeitige Bindung der vier O<sub>2</sub>-Moleküle vergleichen wir mit vier aufeinanderfolgenden Bindungen jeweils eines O<sub>2</sub>:



Bei kooperativer Bindung gilt für die  $K_i = \frac{k_{i,\text{on}}}{k_{i,\text{off}}}$ :  $K_1 < K_2 < K_3 < K_4$

### Exercise 10.2: Vorbereitung

Im folgenden erstellen Sie das Modell in Copasi. Speichern Sie im weiteren Verlauf das Modell zwischendurch immer wieder einmal ab.

- Starten Sie Copasi, wählen Sie `Model` und geben Sie dem Modell einen Namen. Lassen Sie die Einheiten auf den voreingestellten Werten (Sekunden, Milliliter und Millimol).
- Öffnen Sie dann `Biochemical` und geben Sie einen Namen beim ersten Kompartiment ein. Schliessen Sie die Eingabe mit `Return` ab. `Compartments` ist nun ausklappbar, per Klick können Sie die Liste der Kompartimente einblenden. Der Einfachheit halber lassen wir das Volumen des Kompartiments auf dem Standardwert.

- (c) Wechseln Sie nun zu den **Species** und geben Sie nacheinander die Namen **Hem**, **O**, **HemO**, **HemO2**, **HemO3** und **HemO4** ein, jeweils gefolgt von Return. (Achtung keine Nullen eingeben!)

Wählen Sie nun nacheinander die einzelnen Metabolite aus und geben Sie die Anfangskonzentrationen ein. Anfangs soll nur Hem vorhanden sein (**HemO** bis **HemO4** werden auf Null gesetzt). Sauerstoff (**O**) kann mit der Umwelt ausgetauscht werden. Also stellen Sie **Initial Concentrations** für Hem und **O** zu 1. Entsprechend wird der “**Simulation type**” von Sauerstoff auf “**fixed**” gesetzt.

- (d) Wechseln Sie zu **Reactions** und geben Sie nun vier Reaktionsnamen (**R1** bis **R4**) ein. Expandieren Sie **Reactions** und wählen **R1** aus. Geben Sie die chemische Formel  $\text{Hem} + \text{O} = \text{HemO}$  ein. Die Farbe des Eingabefeldes schaltet von rot auf blau, sobald eine syntaktisch korrekte Formel eingegeben ist.

Stellen Sie sicher, dass als **Rate Law** das Massenwirkungsgesetz ausgewählt ist.

- (e) Geben Sie bei **R2** als Reaktion  $\text{HemO} + \text{O} = \text{HemO}_2$  ein. Setzen Sie jedoch vorerst unter Parameter, unter der Spalte “**Value**”, die beiden Ratenkonstanten auf Null (anklicken und neuen Wert eingeben). Geben Sie die analogen Reaktionen bei **R3** und **R4** ein (zunächst auch mit  $k_i = 0$ ).

Kontrollieren Sie die Metaboliten unter **Species**. Nun wird auch angezeigt, in welchen Reaktionen die jeweiligen Metaboliten vorkommen.

- (f) Nun benötigen wir noch die Globale Grösse (*Global Quantity*) “**Y**”, die den Anteil des Sauerstoff-beladenen Hämoglobins angibt. Definieren Sie **Y** und rufen Sie es auf. Stellen Sie den **Simulation type** auf **assignment**.

Der Anteil berechnet sich aus:  $\text{HemO}(t) / \text{Hem}(t=0)$ . Um diese Formel einzugeben, klicken Sie auf das Copasi-Icon rechts neben dem Expression-Eingabefeld. Um die zeitabhängige Konzentration des **HemO** einzugeben, klicken sich zu “**Species > Transient Concentrations > [HemO](t)**” durch. Der Metabolit wird mit OK übernommen. Geben Sie einen “/” ein und wählen Sie danach analog die Anfangskonzentration (Initial Concentration) des **Hem** (warum diese Wahl?). Nach einem Klick auf **Commit** wird die Formel als Bruch angezeigt.

### Exercise 10.3: Zeitabhängige Simulationen

Wechseln Sie zu **Tasks > Time Course**. Hier können Sie zeitabhängige Simulationen des vorher definierten Modells starten. Im oberen Teil werden die Gesamtdauer und Anzahl der Ausgaben (bzw. das Ausgabeintervall) bestimmt, im unteren Teil werden die technischen Parameter des Integrators eingestellt. Lassen Sie diese auf den voreingestellten Werten. Bevor eine Simulation gestartet wird, muss die Ausgabe definiert werden.

- (a) Rufen Sie dazu den **Output Assistant** auf und erzeugen Sie einen Plot der Konzentrationen etc. (*Concentrations, ...*).
- (b) Unter **Output Specifications > Plots** wählen Sie diese Ausgabedefinition aus und geben ihr den Namen **Zeitverlauf**. Ändern Sie auch auf dem Reiter **Values[Y]** den Titel auf **Y**. Übernehmen Sie die Änderungen mit **Commit**.
- (c) Gehen Sie zurück zu **Tasks > Time Course** und starten Sie die Simulation. Verlängern Sie die Simulationsdauer, damit der *steady state* auch erreicht wird. In dem Plot *Zeitverlauf* können Sie die einzelnen Kurven über Klicks auf die Legende ein- und ausblenden. Merken Sie sich den Wert von **Y** am Ende der Simulation. Ändern Sie nun die (konstante) Anfangskonzentration des Sauerstoffs auf 2 Mol und wiederholen Sie die Simulation. **Y** ist nun höher.

### Exercise 10.4: Parameterscan

Wir untersuchen nun die eben festgestellte Abhängigkeit von **Y** von **[O]**.

- (a) Wählen Sie **Tasks > Parameter Scan**. Erzeugen Sie einen neuen Parameterscan, klicken Sie hierfür, im grünen Feld **Tasks**, auf das drop down Feld und selektieren Sie **Time course**.
- (b) Klicken Sie nun auf **create** zum erstellen. Wählen Sie den Anfangswert von 0 als Parameter aus. Stellen Sie mit den weiteren Eingabefeldern einen logarithmischen Scan mit 100 Punkten im Intervall von 0.01 bis 100 ein.  
Starten Sie den Scan. Ist die bisher definierte Ausgabe brauchbar?
- (c) Erstellen Sie einen neuen Plot der Konzentrationen (unten rechts: **Output Assistant**), den Sie "*Belegungen*" nennen. Löschen Sie alle Kurven bis auf "**values[Y]**", für den Sie die *x*-Achse von der Zeit auf die Anfangskonzentration von 0 umstellen. Die Linien im Plot können Sie abschalten, indem Sie im **Parameter Scan** das Häkchen bei "**output during subtask execution**" entfernen. Sie sollten nun eine Sättigungs-Kennlinie analog zu einer *Michaelis-Menten*-Form erhalten.
- (d) Um das zu überprüfen, erstellen Sie zwei globale Variablen **Km** und **MM**, welcher Sie den Ausdruck  $[0] / ([0] + Km)$  zuweisen. Welchen Wert sollte die Michaelis-Konstante **Km** bekommen?
- (e) Gehen Sie zu **Output > Plots > Belegungen** und fügen Sie eine neue Kurve mit **MM** auf der *y*-Achse gegen **[0]** auf der *x*-Achse hinzu. Geben Sie ihr einen sinnvollen Namen. Stimmt **MM** mit den Werten von **Y** aus dem Parameterscan Überein?

### Exercise 10.5: Komplettes Modell

Wir werden nun die anderen Reaktionen in das Modell miteinbeziehen.

- (a) Setzen sie die Reaktionsraten von **R2** bis **R4** auf 0.1.
- (b) Führen Sie analog zu **Y** eine neue Belegungsvariable **Y4** mit  $[Hem04](t) / [Hem](t=0)$  ein. Fügen Sie **Y4** auch zu den beiden Plots hinzu.
- (c) Stellen Sie sicher, dass die **Time Course**-Simulation lang genug läuft, um den *steady state* zu erreichen. Vergleichen Sie den Endwert von **[Y4]** mit **[Y]** von vorher.
- (d) Führen Sie einen Parameterscan durch (ist der Bereich für  $0(t=0)$  noch brauchbar?) und versuchen Sie **MM** an **Y4** anzufitten, indem Sie **Km** manuell ändern.

Sie werden feststellen, dass die *Michaelis-Menten*-Kinetik sich nicht eignet, um diese Reaktionen abzubilden.

### Exercise 10.6: Hill-Kinetik

Wir werden nun die erhaltene **Y4**-Kurve mit einer *Hill*-Kinetik vergleichen.

- (a) Definieren Sie zwei neue Spezies **Hill0** und **Hill4** (Anfangswerte 1 bzw. 0), zwei globale Variablen **k\_on\_Hill** und **k\_off\_Hill** und eine Reaktion **RHill** mit  $Hill0 + 4 O = Hill4$ . (Beachten Sie, dass nun die Zwischenprodukte nicht explizit auftauchen).
- (b) Die beiden Raten der Massenwirkungskinetik verbinden Sie, indem Sie in der Spalte **Mapping** das drop down Fenster öffnen, mit **k\_on\_Hill** und **k\_off\_Hill**.
- (c) Definieren Sie noch eine globale Variable **YHill** =  $Hill4(t) / Hill0(t=0)$ , die Sie den beiden Plots hinzufügen.
- (d) Versuchen Sie nun, **k\_on\_Hill** und **k\_off\_Hill** so zu setzen, dass der Zeitverlauf von **YHill** möglichst nahe an **Y4** kommt. Beachten Sie, dass ihr absoluter Wert die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt, während der Gleichgewichtswert von ihrem Verhältnis bestimmt wird.

- (e) Welche Werte bekommen Sie? Welche Parameter für  $\vartheta(\tau=0) = 2 \text{ Mol}$ ? Stimmt die Belegung von  $\gamma_{\text{Hil1}}$  mit  $\gamma_4$  überein? Können Sie die Übereinstimmung verbessern, indem Sie  $k_{\text{on\_Hil1}}$  und  $k_{\text{off\_Hil1}}$  ändern?

Was können Sie bei kleinen  $\vartheta$ -Konzentrationen hinsichtlich der Belegung der Zwischenprodukte feststellen?