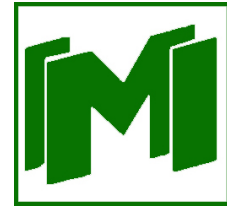




Vilniaus universitetas  
Duomenų mokslo ir skaitmeninių  
technologijų institutas  
L I E T U V A



---

INFORMATIKA (09 P)

---

# KOMPIUTERIO MOKYMO METODAI FIZIKINIŲ IR BIOCHEMINIŲ DUOMENŲ ANALIZĖJE

**Tomas Raila**

2018 m. spalio

Mokslinė ataskaita DMSTI-DS-09P-18-1

VU Duomenų mokslo ir skaitmeninių technologijų institutas, Akademijos g. 4, Vilnius

LT-08663

[www.mii.lt](http://www.mii.lt)

## **Santrauka**

Naudojant baigtinių elementų metodą modeliuojamos fosfolipidinių dvisluoksnių membranų su defektais elektrinio laidumo savybės. Tiriama priklausomybė tarp defektų dydžio, tankio, išsibarstymo geometrijos ir membranų elektrinių charakteristikų. Lyginami rezultatai, gauti naudojant sintetiškai sugeneruotus bei realiuose eksperimentuose gautus defektų pasiskirstymus. Vertinama defektų išsidėstymo heterogeniškumo įtaka membranų elektrinėms savybėms.

**Raktiniai žodžiai:** fosfolipidinės membranos, elektrocheminio impedanso spektroskopija, baigtinių elementų metodas, membranų defektai, heterogeniškumas

# Turinys

---

1	Įvadas .....	4
2	Fosfolipidinių membranų tyrimai .....	4
3	Membranos modelis .....	5
3.1	Modelio formuluotė .....	5
3.2	Modelio realizacija ir skaitinis sprendimas .....	7
4	Modeliavimo rezultatai .....	8
4.1	Palyginimas su analitiniais sprendiniais .....	8
4.2	Eksperimentinis defektų išsidėstymas.....	9
4.3	Palyginimas su realiais EIS spektrais .....	11
5	Išvados .....	12
	Literatūros sąrašas .....	12

## 1 Įvadas

Imobilizuotos dvisluoksnės fosfolipidinės membranos (tBLM) yra populiari eksperimentinė platforma, naudojama baltymų ir membranų sąveikos tyrimams. Šio tipo membranos idealiu atveju yra nelaidžios elektros srovei, tačiau ši savybė keičiasi membranoje esant defektams, atsirandantiems membranai sąveikaujant su tam tikrais baltymais, peptidais ar poras formuojančiais toksinais. Vienas iš metodų, naudojamų įvertinti tBLM membranų dielektrines savybes yra elektrocheminio impedanso spektroskopija (EIS). Nors šis būdas leidžia įvertinti makroskopines membranų savybes, jis nesuteikia tiesioginės informacijos apie struktūrines membranų su defektais savybes. Tokiems atvejams dažnai reikalingi sudėtingesni mikroskopijos metodai, pavyzdžiui atominės jėgos mikroskopija (AFM).

Šio darbo tikslas yra iširti priklausomybę tarp defektuotų membranų struktūrinių savybių ir jų atitinkamų EIS spektrinių požymių. Naudojant baigtinių elementų metodą (FEM) buvo sumodeliuoti EIS spektrai esant įvairiems defektų išsidėstymams membranoje. Trimačiai membranų modeliai buvo realizuoti ir išspręsti naudojant COMSOL Multiphysics baigtinių elementų analizės paketą. Modeliavimo metu buvo naudojami kompiuteriu atsitiktinai sugeneruoti bei eksperimentiškai AFM metodu užregistruoti membranų defektų išsidėstymai.

## 2 Fosfolipidinių membranų tyrimai

Imobilizuotos dvisluoksnės fosfolipidinės membranos (angl. *tethered bilayer lipid membranes - tBLM*) yra universalus eksperimentinis įrankis, leidžiantis kontroliuojamomis sąlygomis tirti sąveikas tarp lipidinių membranų ir baltymų ar kito tipo junginių. Molekuliniiais inkarais prie elektrai laidaus paviršiaus (pvz. aukso elektrodo) pritvirtinta tBLM membrana veikia kaip dielektrikas ir idealiu atveju turėtų pasižymėti idealaus kondensatoriaus savybėmis [VMI12]. Vis dėlto, realiomis sąlygomis tokios membranos pasižymi defektais, įtakojančiais membranos dielektrines savybes. tBLM membranose defektai gali atsirasti natūraliai arba būti dirbtinai sukurti veikiant membraną poras formuojančiais junginiais.

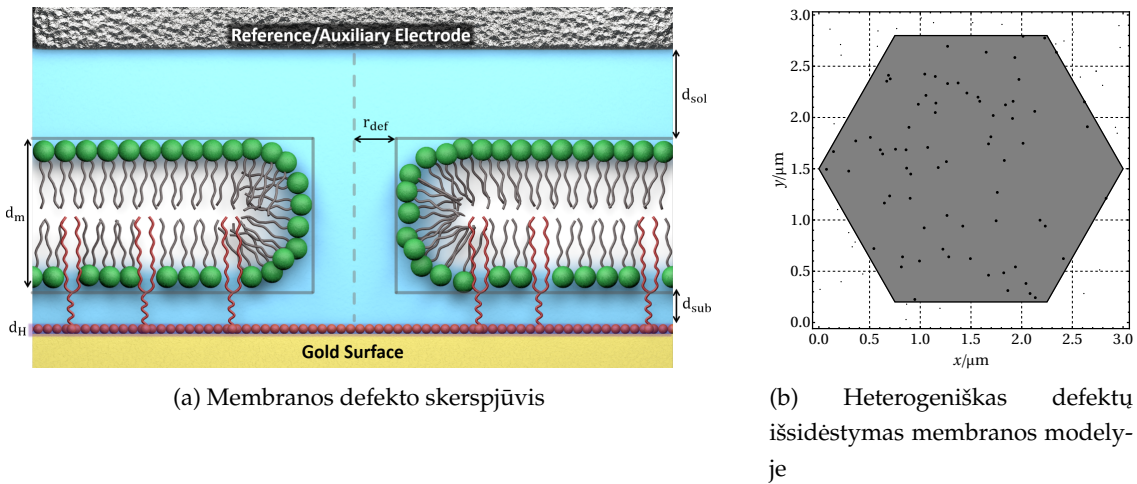
Elektrocheminio impedanso spektroskopija (EIS) yra vienas iš metodų, naudojamų įvertinti tBLM membranų dielektrines savybes. Naudojant šį metodą tiriama sistema yra veikiamą kintamąja elektros srove ir matuojamas jos atsakas pagal srovės dažnį. Tiriama EIS spektrinių charakteristikų ryšį su membranos struktūrinėmis savybėmis ankstesniuose darbuose membranų EIS spektrai buvo modeliuoti tiek analitiškai [VMI12], tiek naudojant baigtinių elementų metodą [KVL<sup>+</sup>10]. Abiem atvejais buvo daroma prielaida, jog defektai membranoje yra pasiskirstę homogeniškai - vienodais tarpusavio atstumais ir sudarantys idealų šešiakampį tinklą. Vis dėlto, eksperimentiniai stebėjimai rodo, jog realiomis sąlygomis defektų pasiskirstymai yra heterogeniški, ir tai įtakoja EIS spektrines

charakteristikas [VMPJ16].

### 3 Membranos modelis

#### 3.1 Modelio formuluotė

Siekiant apskaičiuoti EIS spektrines charakteristikas esant įvairiems heterogeniškiems defektų išsidėstymams tBLM membranoje, sudarytas trimatis membranos modelis, susidedantis iš keturių sluoksnių: tirpalo, membranos, pomembraninio sluoksnio ir Helmholtzo sluoksnio (1a pav.). Naudojama šešiakampė geometrija (1b pav.).



(a) Membranos defekto skerspjūvis

(b) Heterogeniškas defektų išsidėstymas membranos modelyje

1 pav.: tBLM membranos modelis

Baigtinių elementų metodu (FEM) [ZTZ13] sprendžiama Laplaso lygtis [HB12]:

$$\nabla \cdot (\tilde{\sigma}(x,y,z) \nabla \Phi(x,y,z)) = 0 \quad (1)$$

Čia  $\Phi$  yra kompleksinė įtampa,  $\tilde{\sigma}$  - kompleksinis laidumas. Pastarasis dydis gali būti išreikštas realios ir menamosios dalies suma:

$$\tilde{\sigma}(x,y,z) = \sigma(x,y,z) + j \omega \varepsilon(x,y,z), \quad (2)$$

Čia  $\sigma$  ir  $\varepsilon$  atitinkamai - elektrinis laidumas ir dielektrinė skvarba,  $j$  - menamasis vienetas,  $\omega$  - kampinis dažnis, kur  $\omega = 2\pi f$ .

Laikoma, kad šešiakampės modelio prizmės viršuje yra fiksuotas 1V elektrinis potencialas, o po Helmholtzo sluoksnio potencialas lygus 0. Šios prielaidos modelyje išreiškiamos kaip Dirichlė kraštinės sąlygos:

$$\Phi(x, y, h_{hex}) = 1 \quad (3)$$

$$\Phi(x, y, 0) = 0 \quad (4)$$

Taip pat laikoma, kad šešiakampės prizmės šonai yra nelaidūs srovei, apibrėžiant atitinkamą kraštinės sąlygą, kur  $n$  - prizmės šoninės sienos normalinis vektorius:

$$n \cdot J = 0 \quad (5)$$

Pagal kompleksinės įtampos sprendinį išreiškiamas srovės tankis erdvės taške:

$$J(x,y,z) = -\tilde{\sigma}(x,y,z) \nabla \Phi(x,y,z) \quad (6)$$

Pagal srovės tankio reikšmes prizmės viršuje skaičiuojamas admitansas - dydis, apibūdinantis, kaip lengvai objektas praleidžia srovę:

$$Y = \frac{\iint_{(x,y) \in \Gamma_{hex}} -n \cdot J(x,y,h_{hex}) dx dy}{S_{hex}} \times \frac{1}{\Phi(x,y,h_{hex})} \quad (7)$$

1 lentelė: Pagrindiniai modelio parametrai

Aprašymas	Žymėjimas	Reikšmė	Vienetai
Helmholco sluoksnio storis	$d_H$	$6.6 \cdot 10^{-8}$	cm
Pomembraninio sluoksnio storis	$d_{sub}$	$1.8 \cdot 10^{-7}$	cm
Membranos storis	$d_m$	$3 \cdot 10^{-7}$	cm
Tirpalo sluoksnio storis	$d_{sol}$	$50 \cdot 10^{-7}$	cm
Modelio šešiakampės prizmės kraštinės ilgis	$l_{hex}$	kintantis	cm
Helmholco talpa	$C_H$	$5.5 \cdot 10^{-6}$	F cm <sup>-2</sup>
Helmholco sluoksnio santykinė dielektrinė skvarba	$\varepsilon_H$	4.0975	-
Membranos santykinė dielektrinė skvarba	$\varepsilon_m$	2.2	-
Pomembraninio sluoksnio laidumas	$\sigma_{sub}$	$10^{-5}$	S cm <sup>-1</sup>
Defektą atitinkančios srities laidumas	$\sigma_{def}$	$10^{-2}$	S cm <sup>-1</sup>
Tirpalo laidumas	$\sigma_{sol}$	$10^{-2}$	S cm <sup>-1</sup>
Defekto spindulys	$r_{def}$	kintantis	cm
Defektų skaičius	$N$	kintantis	-
Defektų tankis	$N_{def}$	kintantis	cm <sup>-2</sup>

Defektas apibrėžiamas kaip membraną ir pomembraninį sluoksnį kertantis cilindras su spinduliu  $r_{def}$  ir aukščiu  $d_m + d_{sub}$ . Nagrinėjami tiek homogeniški defektų pasiskirstymai (vienodi atstumai tarp defektų, šie sudaro idealų šešiakampį tinklą), tiek heterogeniški pasiskirstymai. Pastarieji generuojami kiekvienam defektui nepriklausomai imant  $x$  ir  $y$  koordinatas iš tolydžio pasiskirstymo. Generuojant defektų išsibartymus naudojami parametrai - defekto spindulys  $r_{def}$ , defektų skaičius  $N$ , defektų tankis  $N_{def}$ . Nuo pastarųjų dviejų parametrų atitinkamai priklauso modelio šešiakampės prizmės kraštinės ilgis  $l_{hex}$ . Kiekvieno defektų išsibartymo atveju modeliuojama dažnio sritis nuo  $10^{-2}$  iki  $10^6$  Hz, taškus išdėstant logaritmiškai po 10 taškų dekadai - gaunamas 81 taškas, iš kurių sudaromas EIS spektras. Šioje ataskaitoje aprašomuose eksperimentuose nagrinėjami šie EIS parametrai, išvedami iš admitanso reikšmių:

$f_{min}$  – dažnis  $f$  kuriame  $\arg Y(f)$  įgyja mažiausią reikšmę, (8)

$\arg Y(f_{min})$  – admitanso fazės reikšmė taške  $f_{min}$ , (9)

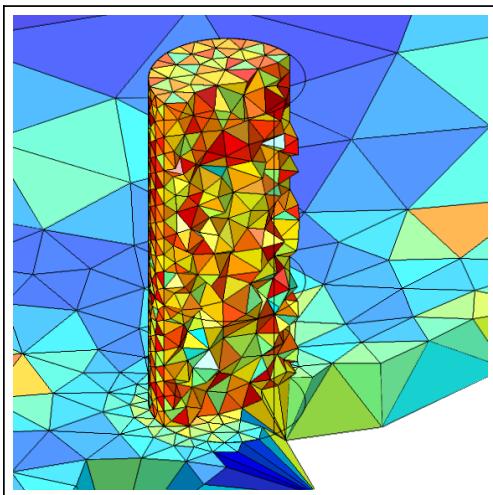
$|Y(f_{min})|$  – admitanso modulio reikšmė taške  $f_{min}$ , (10)

$D_{f_{min}}$  – išvestinė  $\frac{d \lg |Y|}{d \lg f}$  taške  $f_{min}$ . (11)

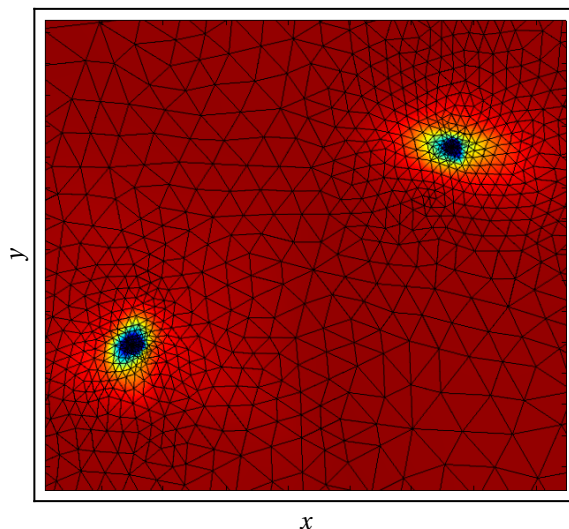
### 3.2 Modelio realizacija ir skaitinis sprendimas

Aprašytas trimatis defektuotos membranos modelis buvo realizuotas naudojant baigtinių elementų analizės paketą *COMSOL Multiphysics*. Skaitinis modelio sprendimas susideda iš dviejų etapų. Pirmame etape sugeneruojamas tinklelis (angl. *mesh*), padalinantis modeliuojamą trimatę sritį į tetraedrus. Daroma prielaida, jog didžiausi srovės tankio pokyčiai yra defektų viduje ir aplink juos, todėl, siekiant tikslesnių skaičiavimų rezultatų, šiose srityse tinklelis sutankinamas (2a, 2b pav.), tuo tarpu modelio srityse neturinčiose defektų tinklelis išretinamas. Antrame etape pagal sugeneruotą tinklelį bei aprašomą matematinį modelį sudaroma didelė išretinta tiesinių lygčių sistema, sprendžiama vienu iš COMSOL pakete realizuotų algoritmų. Šiame darbe aprašomuose eksperimentuose naudotas MUMPS (angl. sutrump. *multifrontal massively parallel sparse direct solver*) algoritmas [ADKL01], priklausantis tiesioginių algoritmų (angl. *direct solver*) grupei. Nors tokie išretintų matricių sprendimo algoritmai pasižymi stabilumu, sprendžiant didelės apimties uždavinius dažniau naudojami iteraciniai algoritmai, pasižymintys didesniu našumu.

Skaičiavimų trukmės priklausomybė nuo defektų dydžio ir defektų skaičiaus, esant fiksuotam defektų tankiui modelyje, pateikta 2 lentelėje. Galima pastebėti, kad didinant defektų skaičių modelyje, modelio laisvės laipsnių skaičius ir, atitinkamai, skaičiavimų trukmė didėja tiesiškai. Laikai išmatuoti atliekant skaičiavimus sekančioje aplinkoje: Lenovo Thinkpad T470s, Intel Core i5-7300U CPU @ 2.60GHz, 12 GB RAM, Debian GNU/Linux 9 (stretch) OS. Taip pat dalis eksperimentų buvo vykdyta MIF paskirstytų skaičiavimų tinkle (PST), kiekvieno modelio atveju skaičiavimus lygiagrečiai pagal srovės dažnio  $f$  parametą.



(a) Trimatis tinklelio vaizdas defekte ir jo aplinkoje



(b) Tinklelio vaizdas iš viršaus

2 pav.: Modeliuojamos srities tinklelis

2 lentelė: Skaičiavimų trukmė esant skirtingiems defektų dydžio  $r_{def}$  ir defektų skaičiaus  $N$  parametrams. Skaičiavimai atlikti su atsitiktinai sugeneruotais heterogeniškais defektų pasiskirstymais, esant fiksuotam defektų tankiui  $N_{def} = 10 \mu\text{m}^{-2}$

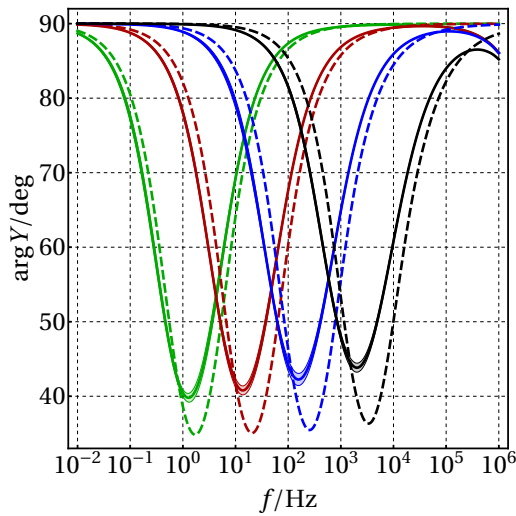
$r_{def}$	$N$	Laisvės laipsnių sk.	Lygčių sistemos sprendimo laikas, s	Bendras laikas, s
1	10	106570	245	272
1	25	234751	518	563
1	50	472177	1023	1102
1	100	961557	2132	2286
25	10	135807	287	318
25	25	348648	725	784
25	50	690009	1419	1530
25	100	1380978	2841	3071

## 4 Modeliavimo rezultatai

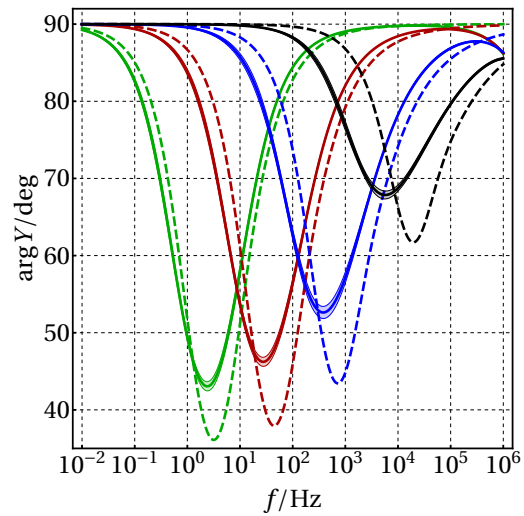
### 4.1 Palyginimas su analitiniais sprendiniais

Šio eksperimento metu buvo tiriama EIS spektrinių charakteristikų priklausomybė nuo defektų tankio, esant heterogeniškiems atsitiktinai sugeneruotiems defektų išsidėstymams (3 pav.). Kiekvienu defektų tankio atveju buvo sugeneruota 10 defektų išsibarstymų, su kuriais atliktas baigtinių elementų modeliavimas. Tuo pačiu rezultatai palyginti su analitiniais sprendiniais atitinkamo tankio homogeniškiems defektų išsibarstymams (esant vienodiems atstumams tarp defektų) [VMI12].





(a) 1 nm dydžio defektai



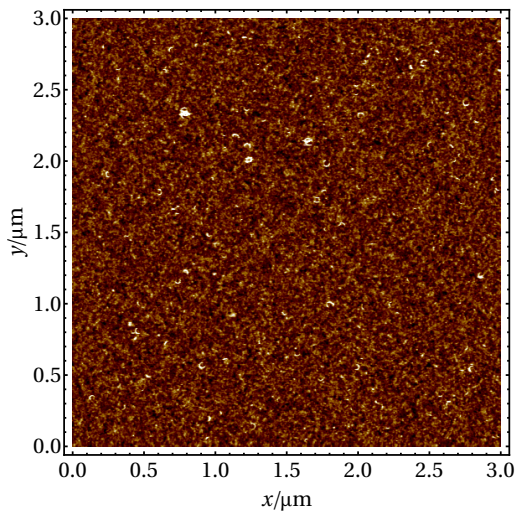
(b) 25 nm dydžio defektai

3 pav.: EIS spektrų priklausomybė nuo defektų tankio. Ištininės kreivės žymi baigtinių elementų metodu sumodeliuotus spektrus heterogeniškiems defektų pasiskirstymams. Punktyrinės kreivės žymi analitinius sprendinius homogeniškiems defektų pasiskirstymams. Skirtingos spalvos atitinka skirtingą defektų tankį: žalia -  $N_{def} = 0.1\mu\text{m}^{-2}$ , raudona -  $N_{def} = 1\mu\text{m}^{-2}$ , mėlyna -  $N_{def} = 10\mu\text{m}^{-2}$ , juoda -  $N_{def} = 100\mu\text{m}^{-2}$

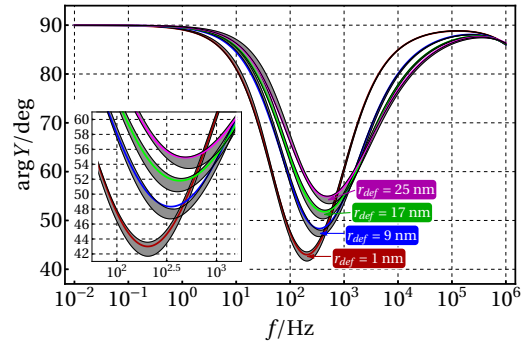
Rezultatai rodo, jog defektų išsibarstymo heterogeniškumas nesukelia ryškių kokybinių pokyčių EIS spektruose. Kita vertus, šiuo atveju pastebimas admitanso fazės minimumo taško poslinkis į viršų bei link mažesnių dažnių. Pagal tokią EIS spektrinių charakteristikų nuo defektų tankio priklausomybę galima įvertinti defektų tankį eksperimentiškai EIS metodu tiriamai tBLM membranai, su sąlyga kad kiti sistemos parametrai yra žinomi.

## 4.2 Eksperimentinis defektų išsidėstymas

Naudojant AFM mikroskopijos metodą buvo užregistruoti realūs defektų išsidėstymai tBLM membranose. Vizualiai įvertinus AFM vaizdus buvo parinkti du atvejai - be defektų klasterių ir su klasteriais (4a, 5a pav.). Nustačius defektų tankį atrinktuose išsidėstymuose buvo sugeneruoti heterogeniški atitinkamo tankio defektų pasiskirstymai (po 10 variantų kiekvienam realiam atvejui) ir atliktas baigtinių elementų modeliavimas tiek su sugeneruotais pasiskirstymais, tiek su eksperimentiškai registruotais. Tikslūs defektų matmenys realiais atvejais nebuvo žinomi, todėl skaičiavimai buvo atliekami su 4 tikėtinais defektų spinduliais  $r_{def} = 1, 9, 17, 25$  nm, atsižvelgiant į eksperimento sąlygas [TOG+05].

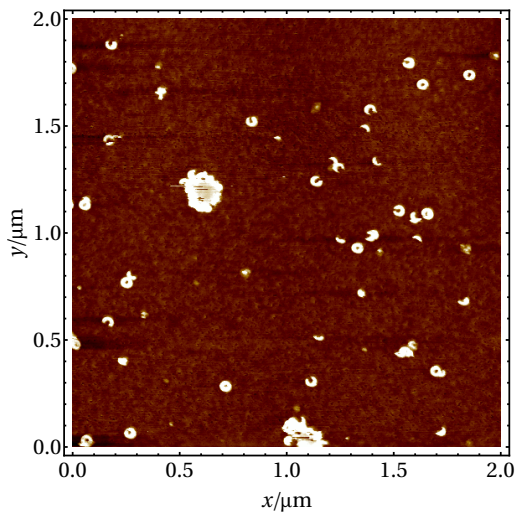


(a) Membranos AFM vaizdas

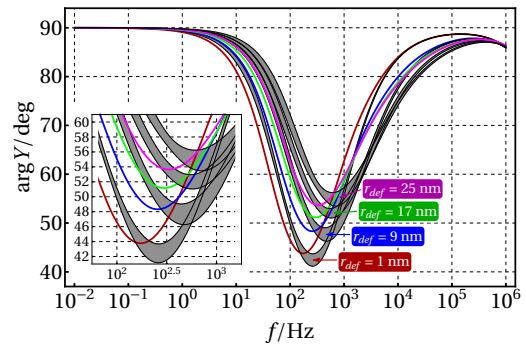


(b) EIS spektrai sumodeliuoti eksperimentiškai gautam (spalvotos kreivės) ir kompiuteriu sugeneruotiems (pilkos juostos) defektų išsidėstymams

4 pav.: EIS spektrų modeliavimas pagal eksperimentiškai gautą defektų išsibarstymą be klasterių



(a) Membranos AFM vaizdas



(b) EIS spektrai sumodeliuoti eksperimentiškai gautam (spalvotos kreivės) ir kompiuteriu sugeneruotiems (pilkos juostos) defektų išsidėstymams

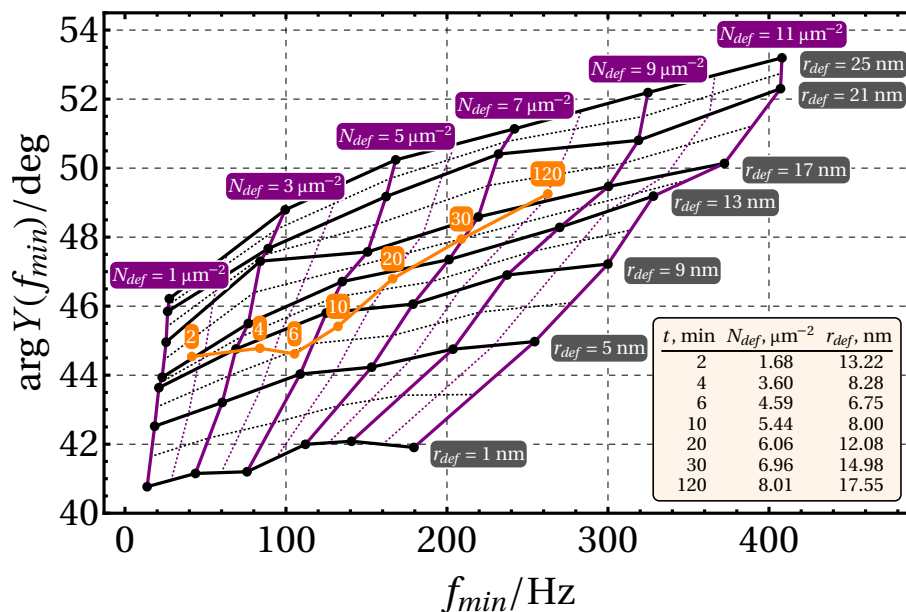
5 pav.: EIS spektrų modeliavimas pagal eksperimentiškai gautą defektų išsibarstymą su klasteriais

Atlikus skaičiavimus aprašytomis sąlygomis buvo siekiama atsakyti į klausimą, ar EIS spektrai, gauti iš atsitiktinai kompiuteriu sugeneruotų pasiskirstymų ir eksperimentiškai užregistruotų, yra panašūs. Rezultatai gauti defektų pasiskirstymo be klasterių

atveju (4a, 4b pav.) šią hipotezę patvirtina - daugumos defektų spindulių atvejais eksperimentinio pasiskirstymo EIS kreivės suderinamos su sintetinių pasiskirstymų atveju standartinio nuokrypio juostomis, išskyrus nedidelius nesutapimus 9 nm defektų atveju. Tuo tarpu eksperimentinio išsibarstymo su klasteriais atveju matomi ryškūs nesutapimai su sintetinius pasiskirstymus atitinkančiomis juostomis (5a, 5b pav.).

### 4.3 Palyginimas su realiais EIS spektrais

Atliekant tBLM membranos ir VLY baltymo [ZPL+10] sąveikos eksperimentą buvo registruojami EIS spektrai praėjus skirtingam laikui nuo eksperimento pradžios. Interpoliuojant eksperimentų, aprašytų 4.1 ir 4.2 poskyriuose, rezultatus, pagal eksperimentinius EIS spektrus buvo įvertintas membranos defektų tankis bei jų spindulys kiekvieno matavimo metu (6 pav., lentelė ir oranžinė kreivė). Taip pat buvo sumodeliuoti EIS spektrai sintetiniams defektų pasiskirstymams su įvairiu tankiu ir spinduliu (6 pav.). Atvaizdavus pagrindinius visų šių EIS spektrų parametrus ( $f_{min}$  ir  $argY(f_{min})$ ) matyti reikšminga koreliacija tarp eksperimentinių duomenų ir modeliavimo rezultatų. Kita vertus, pastebimas žymus eksperimentinių duomenų kreivės nuokrypis nuo modeliavimo rezultatų laiko intervale nuo 4 iki 20 min. Tai gali būti susiję su defektų klasterizacija membranoje arba kitais reiškiniais - norint paaiškinti šį efektą reikalingi tolesni tyrimai.



6 pav.: Eksperimentiškai gauto tBLM membranos EIS spektro (oranžinė kreivė) palyginimas su modeliuotais EIS spektrais pagal heterogeniškus atsitiktinai sugeneruotus defektų pasiskirstymus (juodi taškai)

## 5 Išvados

Aprašytų tyrimų metu buvo realizuotas trimatis tBLM membranos su defektais modelis ir baigtinių elementų metodu sumodeliuoti EIS spektrai esant įvairiems defektų pasiskirstymams membranoje. Nustatytas kokybinis panašumas tarp skaitiškai sumodeliuotų EIS spektrų heterogeniškiems defektų pasiskirstymams ir analitinių sprendinių homogeniškiems pasiskirstymams. Palyginus modeliavimo rezultatus, gautus naudojant eksperimentiškai užregistruotus defektų išsidėstymus bei kompiuteriu atsitiktinai sugeneruotus, pastebėta reikšminga defektų klasterizacijos įtaka EIS spektrinėms charakteristikoms. Realių ir modeliuotų EIS spektrų palyginimas rodo, jog EIS metodas turi potencialo būti naudojamas struktūrinių tBLM membranų savybių įvertinimui.

### *Literatūros sąrašas*

- [ADKL01] Patrick R. Amestoy, Iain S. Duff, Jacko Koster, and Jean-Yves L'Excellent. A fully asynchronous multifrontal solver using distributed dynamic scheduling. *SIAM Journal on Matrix Analysis and Applications*, 23:15–41, 2001.
- [HB12] William H. Hayt and John A. Buck. *Engineering Electromagnetics*, 8th ed. McGraw-Hill, 2012.
- [KVL<sup>+</sup>10] Kwang Joo Kwak, Gintaras Valincius, Wei-Ching Liao, Xin Hu, Xuejin Wen, Andrew Lee, Bo Yu, David J Vanderah, Wu Lu, and L James Lee. Formation and finite element analysis of tethered bilayer lipid structures. *Langmuir*, 26:18199–18208, 2010.
- [TOG<sup>+</sup>05] Sarah J. Tilley, Elena V. Orlova, Robert J.C. Gilbert, Peter W. Andrew, and Helen R. Saibil. Structural basis of pore formation by the bacterial toxin pneumolysin. *Cell*, 121:247–256, 2005.
- [VMI12] Gintaras Valincius, Tadas Meškauskas, and Feliksas Ivanauskas. Electrochemical impedance spectroscopy of tethered bilayer membranes. *Langmuir*, 28:977–990, 2012.
- [VMPJ16] Gintaras Valincius, Mindaugas Mickevicius, Tadas Penkauskas, and Marija Jankunec. Electrochemical impedance spectroscopy of tethered bilayer membranes: An effect of heterogeneous distribution of defects in membranes. *Electrochim. Acta*, 222:904–913, 2016.
- [ZPL<sup>+</sup>10] Aurelija Zvirbliene, Milda Pleckaityte, Rita Lasickiene, Indre Kucinskaite-Kodze, and Gintautas Zvirblis. Production and characterization of monoclonal antibodies against vaginolysin: Mapping of a region critical for its cytolytic activity. *Toxicon*, 56:19–28, 2010.

[ZTZ13] Olek C. Zienkiewicz, Robert L. Taylor, and J. Z. Zhu. *The Finite Element Method: Its Basis and Fundamentals, 7th ed.* Butterworth-Heinemann, 2013.