

Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Bc. Martin Beneš

Virtuální laboratoř pro simulace biologických procesů na membránách

Katedra aplikované matematiky

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Tomáš Bílý

Studijní program: Informatika

Studijní obor: Obecná informatika

Praha 2013

Poděkování:

Rád bych tímto poděkoval vedoucímu své bakalářské práce Tomáši Bílému za ochotu, trpělivost a cenné rady, kterými mi při vypracování této práce pomohl.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů, literatury a dalších odborných zdrojů.

Beru na vědomí, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorského zákona v platném znění, zejména skutečnost, že Univerzita Karlova v Praze má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

V dne.....

podpis

Název práce: Virtuální laboratoř pro simulace biologických procesů na membránách

Autor: Bc. Martin Beneš

Katedra: Katedra aplikované matematiky

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Tomáš Bílý

Abstrakt:

Cílem této práce je vytvoření virtuální počítačové laboratoře, ve které bude možno simulovat a analyzovat chování na biologické membráně buněk. Membrána s okolím je popsána sítí hexů, jenž obsahují různé další látky a komponenty, které spolu interagují. V závislosti na tomto rozložení lze na membráně pozorovat známé úkazy jako zesílení akčního potenciálu. Simulace samotná by měla předvést, že na základní modelování dějů na membráně stačí pár základních fyzikálních a chemických pravidel.

Klíčová slova: virtuální laboratoř, simulace, biologické procesy, membrána

Title: Virtual laboratory for simulation of biological processes on membranes

Author: Bc. Martin Beneš

Department: Department of Applied Mathematics

Supervisor: Mgr. Tomáš Bílý

Abstract:

The purpose of this thesis is the creation of a virtual computer laboratory, where it will be possible to simulate and analyze the behavior on the biological cell membrane. The membrane and its surroundings are described as a hex-net with other chemicals and components that interact with each other. Depending on this distribution, it is possible to observe well-known membrane phenomena such as the amplification of the action potential. The simulation itself should show, that for the basic membrane-activity modeling, you only need a few basic laws of physics and chemistry.

Keywords: virtual laboratory, simulation, biological processes, membrane

Obsah

1. Úvod.....	8
2. Biologické pozadí.....	9
2.1. Signální transdukce	9
2.2. G protein.....	10
2.3. Adenylátcykláza	10
2.4. Iontové kanály	11
2.5. Iontové pumpy.....	11
2.6. Fyzikální a chemické pozadí	11
3. Model	13
3.1. Prostředí.....	13
3.2. Difuze	13
3.3. Membrána.....	14
3.4. Receptory.....	14
3.5. Iontové kanály	16
3.6. Iontové pumpy.....	16
3.7. Reakce	17
3.8. Mechanika modelu	18
4. Uživatelská dokumentace.....	20
4.1. Uživatelské rozhraní.....	20
4.2. Další funkce aplikace	26
4.3. Vytváření simulací	27
5. Simulace.....	29
5.1. Model synaptického přenosu v CNS.....	29
5.1.1. Biologický popis modelu	29
5.1.2. Popis modelu.....	29
5.1.3. Pozorování z modelu	30

5.2.	Model signální transdukce v čichových sensorických neuronech	32
5.2.1.	Biologický popis modelu	32
5.2.2.	Popis modelu.....	32
5.2.3.	Pozorování z modelu	32
6.	Programátorské poznámky.....	35
6.1.	Hardwarové a softwarové nároky.....	35
6.2.	Struktura aplikace.....	35
6.2.1.	Dialogová okna	35
6.2.2.	Datové struktury.....	36
6.2.3.	Ostatní třídy.....	37
6.3.	Ukládání a načítání	40
7.	Závěr	41
8.	Použitá literatura	42
9.	Seznam obrázků	44

1. Úvod

Cílem této práce je vytvořit virtuální laboratoř pro simulace dějů na membráně a jejím okolí v závislosti na základních fyzikálních pravidlech tohoto systému. Bude nás zajímat, zda těchto pár fyzikálních a chemických zákonů stačí k věrnému modelování dějů na membráně buněk.

Chceme-li modelovat děje na membráně buněk, musíme nejprve pochopit, jak tyto děje fungují a z jakých entit se skládají. Poté si musíme ve své mysli udělat představu o podstatných dějích, které toto ovlivňují, a systém značně zjednodušit tím, že zahrneme pouze děje a entity podstatné pro to, co chceme modelovat.

Vytvořená virtuální laboratoř nám umožňuje nejenom pochopit děje na membráně, ale i pochopit co by se dělo, kdyby některé entity tohoto systému chyběly a zda jsou podstatné pro námi zkoumaný děj. Díky vytvořenému souboru pravidel tak můžeme sledovat jednotlivé děje na membráně a vydedukovat, jaký mají význam a příčinu, což není klasický přístup vědce, kterému je dovoleno pouze pozorovat a na základě vypořizovaného uvádět hypotézy a závěry.

Schopnost této virtuální laboratoře modelovat děje na membráně bude demonstrována na signální transdukcii čichových sensorických neuronů obratlovců, což je signální dráha, která se příliš neliší od nejčastějších biologických jevů na membráně.

2. Biologické pozadí

V této kapitole se podíváme na nejdůležitější biologické komponenty dějů na membráně se speciálním zaměřením na komponenty nalézající se v signální dráze v čichových neuronech. Probereme zde také základní fyzikální a chemické vztahy, které zde platí.

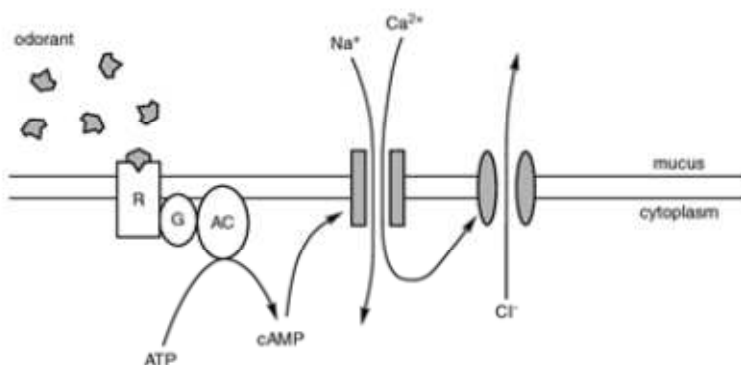
2.1. Signální transdukce

Signální transdukce je přeměna jednoho typu signálu na jiný, což je základní děj probíhající na buněčné membráně. Zahrnuje stimulaci vnější buněčné membrány molekulami nějaké látky a vyvolání odpovědi uvnitř buňky. Odpovědi buňky na stimulaci vnější membrány mohou být velmi různé, od stimulace vyvolávající apoptózu (sebedestrukci buňky) či buněčné dělení až po přeměnu stimulace na elektrický impuls putující po membráně buňky a jeho přenesení na další buňky.

V jednoduchosti můžeme rozdělit signální transdukci na 2 podskupiny. Skupinu ionotropní a metabolotropní. Iotropní skupina se vyznačuje tím, že obsahuje ionotropní iontové kanály, které jsou stimulovány přímo molekulami na vnější straně buněčné membrány. Zatímco metabolotropní skupina je charakteristická tím, že signál do buňky se dostává nepřímo přes receptory, které způsobí změnu metabolismu buňky, což vede k produkci specifických signálních molekul uvnitř buňky, které působí jako druzí poslové, přičemž daná signální dráha ani vůbec nemusí obsahovat iontové kanály. Vybraná signální dráha patří do skupiny metabolotropní. V jednoduchosti zajišťuje přeměnu stimulace molekulami pachu na elektrický impuls, který je předáván dalším buňkám v mozku.

Prvním krokem naší signální dráhy je vazba odorantu (molekuly pachu), nacházejícího se v hlenu kolem řasinky čichového neuronu v nose, na receptor. Následně receptor aktivuje G protein, který svou aktivitou aktivuje adenylát cyklázy typu III, což způsobí nárůst koncentrace cAMP uvnitř řasinky. Dostatečná koncentrace cAMP poté otevírá první ze dvou transdukčních kanálů, a to CNG kanály. Tyto kanály činí řasinku vysoce propustnou pro Ca^{2+} . Vtok Ca^{2+} iontů do buňky má za následek depolarizaci buňky, což má za následek první část akčního potenciálu. Jakmile je koncentrace Ca^{2+} uvnitř buňky dostatečně vysoká, otvírají se

druhé transdukční kanály, a to Ca^{2+} řízené Cl^- kanály. Otevření těchto kanálů učiní buňku vysoce propustnou pro Cl^- a způsobí další depolarizaci, což je druhá část akčního potenciálu. (Kleene 2008)



Obr. 1 - Signální transdukce pro generování receptorového potenciálu

Rovnoběžné vodorovné čáry reprezentují vnitřní a vnější povrch cytoplazmatické membrány řasinky čichového sensorického neuronu, R zastupuje receptorový protein vázající odorant, G označuje GTP-vázající protein, AC je adenylyl cykláza typu III, šedé obdélníky jsou CNG kanál a šedé ovály jsou Ca^{2+} řízený Cl^- kanál. Obrázek převzat z Kleene 2008.

2.2. G protein

G protein je membránou procházející protein, který je spojen s receptorem na vnější straně membrány. Po navázání ligandu na receptor se změní konformace G proteinu, který se rozpadne na 2 části, podjednotky α a $\beta + \gamma$, které hrají roli v předávání signálu dále. Aktivní je hlavně podjednotka α , která velmi často způsobuje aktivaci adenylylcykláz. G protein je nejtypičtější počátek metabolotropní signální dráhy. (Alberts)

2.3. Adenylylcykláza

Adenylyl cykláza je příklad jednoho z typů enzymů vyskytujících se v signálních drahách. Bývají aktivovány α podjednotkou G proteinu. Po aktivaci katalyzují

přeměnu ATP na cAMP, což je příklad jedné ze signálních molekul uvnitř buňky hojně využívaných při signálních drahách. Mezi další velmi obvyklé „druhé posly“ patří molekuly cGMP, Ca^{2+} , DAG či IP3. (Alberts)

2.4. Iontové kanály

Iontové kanály jsou membránou procházející proteiny, které na základě změny konformace můžou učinit membránu částečně propustnou pro vybrané ionty či jiné molekuly. Dají se rozdělit do dvou skupin dle způsobu jejich aktivace na napět'ově řízené a ligandem řízené. Napět'ově řízené zaznamenávají změnu napětí na membráně. Při dosažení prahové hladiny změny svou konformaci díky čemuž se membrána stane propustná pro dané ionty. Zatímco ligandem řízené kanály mají na vnější či vnitřní straně membrány vazebná místa pro ligand, která navázáním způsobují změnu konformace. Iontové kanály jsou v podstatě jednou z nejdůležitějších proteinových struktur na membráně, jelikož zajišťují rychlý a objemově relativně velký transport iontů skrze membránu. (Alberts)

2.5. Iontové pumpy

Iontové pumpy se principem trochu podobají iontovým kanálům. Transportují taktéž ionty skrze membránu, na rozdíl od iontových kanálů však směr transportu iontů probíhá proti směru gradientu. Jako pohon pro tento transport je využíván buď gradient jiných iontů, který je transportován stejným či opačným směrem spolu s daným iontem (symport a antiport) či hydrolýza ATP na ADP (ATPáza). Jsou zodpovědné hlavně za udržování klidového rovnovážného stavu a návrat do něj. (Alberts)

2.6. Fyzikální a chemické pozadí

Na veškeré látky působí základní fyzikální a chemické síly. Jednou z těchto fyzikálních sil, která je důležitá při sledování dějů na membráně, je chaotický pohyb částic na základě Brownova pohybu. Důsledek tohoto pohybu je, že se vyrovnávají rozdíly koncentrací na jednotlivých místech, což je známo hlavně jako difuze. Matematicky je difuze snadno popsatelná 1. Fickovým zákonem

$$J = -D\nabla c$$

kde J je difuzní tok přes nějakou hranici, ∇c je gradient koncentrace látky a D je difuzní koeficient závislý na velikosti částice, teplotě a viskozitě prostředí. (Bartovská 2005) Dalším důležitým jevem, který hraje velkou roli při sledování dějů na membráně, je, co se děje s látkami, když se srazí a reagují. Tyto děje jsou principiálně popsitelné pomocí chemické reakční kinetiky, kdy do reakce vstupují reaktanty (což mohou být klidně i velké proteinové komplexy) a výsledkem reakce jsou produkty. Překvapivě tímto aparátem lze popisovat i takové věci jako změnu konformace proteinů po navázání ligandu. I když se může zdát, že děje na membráně jsou složité, tak si vystačíme s reakční kinetikou nižších řádů. Ve většině případů jsou reakce zde se vyskytující 1. či 2. řádu. Z velmi používaných reakcí, které zde nebyly zmíněny a používají se při studiu dějů na membráně, je nejčastější pravděpodobně kinetika Michaelise a Mentenové popisující reakce enzymů. Přestože vypadá úplně odlišně od chemických kinetik nižších řádů je principiálně z nich též odvozena.

3. Model

V této kapitole si popíšeme náš model buňky a okolí buněčné membrány a jednotlivé komponenty, které hrají roli při simulování dějů v tomto prostředí.

3.1. Prostředí

Z důvodů zjednodušení a výrazného zkrácení výpočetního času je prováděna simulace pouze tenkého řezu skrze buňku. Nosným prvkem simulačního programu je diskretní model prostředí obsahující jednotlivá políčka (šestiúhelníky) 2D mřížky, přičemž tyto jsou vnímány jako šestiboké hranoly pro lepší přiblížení skutečnosti. Šestiúhelníková políčka byla zvolena z důvodu lepšího řešení sousednosti jednotlivých políček, jelikož na rozdíl od čtvercové sítě, se kterou by bylo snazší počítat, je zde veškerá sousednost totožná a nenastává problém se sousedností diagonálně přes roh. Každé takovéto políčko nese informaci o tom, zda se na něm nachází membrána, koncentraci jednotlivých látek, hustotě kanálů a pump (pokud je toto políčko membrána), zda se na něm nacházejí jednotlivé typy receptorů či zda zde probíhají nějaké reakce. Základní věc, která je v tomto modelu sledována, je koncentrace látek na jednotlivých místech v prostředí, která je v první řadě ovlivňována difuzí a interakcí s ostatními komponenty modelu. Velikost políček je proměnná, avšak pouze v rámci jednotlivých modelů, v rámci jednoho modelu je vždy stejná. V případě, že bychom chtěli mít proměnnou velikost políček v rámci jednoho modelu, byla by zvolená síť špatně použitelná, avšak mohlo by se dosáhnout mnohem větší reálnosti v závislosti na použitém výpočetním výkonu.

3.2. Difuze

Difuze probíhá podle Fickova zákona mezi všemi sousedícími buňkami. Okrajové podmínky jsou nastaveny tak, že je toto uzavřený systém ohraničený posledními šestiúhelníky v mřížce a buňkami obsahujícími membránu. Přes tyto buňky při samotné difuzi nic neteče ven.

$$J = -D\nabla c$$

je klasické znění 1. Fickova zákona, kde J je difuzní tok přes nějakou hranici, D je difuzní konstanta a ∇c je gradient koncentrace látky. V našem modelu se počítá difuzní tok mezi každou dvojicí sousedících buněk, s tím, že se vyhodnocuje pouze kladný difuzní tok, jelikož jinak by byl každý difuzní tok zduplikován. Model je navržen tak, že difuzní konstantu lze buď zadat přímo, či je spočtena na základě předpokladu, že se jedná o kulovitou částici při teplotě 20°C a viskozita roztoku je blízka viskozitě vodného roztoku. Další předpoklad zahrnutý do tohoto modelu je, že koncentrace v každém jednotlivém hexu je konstantní. Tudíž v reálu se difuzní tok přes jednu hranu šestiúhelníku počítá následovně:

$$J = -\frac{k_B T}{6\pi\eta_0 r} * \frac{\Delta c}{d}$$

kde J je difuzní tok přes stranu hexu, k_B je Boltzmanova konstanta, T je teplota prostředí v K, η_0 je viskozita prostředí, r je poloměr velikosti částice, Δc je rozdíl koncentrací ve dvou sousedních hexech a d je vzdálenost mezi středy dvou hexů. (Bartovská 2005)

3.3. Membrána

Z hlediska modelu funguje membrána hlavně jako oddělovač dvou prostředí, ve kterých probíhá difuze. Je počítáno s tím, že membrána bude pouze jedna vrstva buněk. V modelu je podstatné i na které straně membrány jsou dané buňky, zda na vnitřní či vnější straně. Poslední vlastností membrány, která je použita v modelu, je možnost pouze na ní umístit některé komponenty modelu. Tyto komponenty jsou iontové kanály, iontové pumpy a napětově ovládané receptory. Přičemž model je navržen tak, že každá komponenta má maximálně 1 aktivující a 1 inhibující receptor.

3.4. Receptory

V tomto modelu se nacházejí 2 typy receptorů. Napětově ovládané receptory a ligandem ovládané receptory. Veškeré receptory vystupují v modelu jako samostatné komponenty, které mohou mít aktivační či inhibiční činnost na některou jinou komponentu na stejném či sousedním políčku.

Napětově ovládané receptory se nacházejí pouze na membráně, kde zjišťují, zda nebyl překročen prahový potenciál pro tento receptor. Pokud je tento potenciál překročen, aktivují veškeré komponenty, které jsou s nimi spojeny. Membránový potenciál se spočte pomocí lehce zobecněné Goldmanovy rovnice:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{\sum n P_x [x^{+n}]_e + \sum n P_x [x^{-n}]_i}{\sum n P_x [x^{+n}]_e + \sum n P_x [x^{-n}]_i}$$

kde φ je membránový potenciál, R je plynová konstanta, F je Faradayova konstanta, T je termodynamická teplota, P je propustnost daného iontu přes membránu pasivním transportem (iontovými kanály či samotnou difuzí) a $[x^{\pm n}]$ je koncentrace daného iontu s kladným či záporným nábojem o velikosti n v i – intracelulárním a e -extracelulárním prostředí. S touto upravenou rovnicí se počítá v našem modelu. Je upravena pouze tak, že se nepočítá pouze se 3 hlavními ionty procházejícími přes membránu ale se všemi takovými ionty.

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Na}[Na]_e + P_K[K]_e + P_{Cl}[Cl]_i}{P_{Na}[Na]_i + P_K[K]_i + P_{Cl}[Cl]_e}$$

Graf 1 – Původní Goldmanova rovnice

Goldmanova rovnice, kde φ je membránový potenciál, R je plynová konstanta, F je Faradayova konstanta, T je termodynamická teplota, P je propustnost daného iontu přes membránu pasivním transportem (iontovými kanály či samotnou difuzí) a $[..]$ je koncentrace daného iontu v i – intracelulárním a e -extracelulárním prostředí.

Ligandem ovládané receptory se nacházejí pouze na políčkách sousedících s membránou. Na tomto políčku se na základě koncentrace látky, na kterou jsou citlivé, spočte procentuelní část aktivovaných receptorů, což se poté převede na odpovídající množství aktivovaných či inhibovaných komponent. Procento aktivovaných receptorů se spočte pomocí vazebné isothermy:

$$x = \frac{c}{K_d + c}$$

kde c je koncentrace ligandu a K_d je disociační konstanta. Toto přiblížení je docela nepřesné, jelikož nebere v potaz několik celkem dobře známých věcí, které ovlivňují vazbu ligandů na receptory, jako je nespecifická vazba. Dále je v modelu zanedbáno i to, že by komponenta potřebovala pro aktivaci či inhibici navázání více molekul ligandu, jelikož po navázání 1 molekuly ligandu se ve většině případu mění disociační konstanta, což má za následek rapidní zvýšení pravděpodobnosti navázání dalších molekul ligandu. (Katzung 1994)

3.5. Iontové kanály

Iontové kanály se v modelu vždy nacházejí na membráně s tím, že je definována jejich hustota zde. Na základě kapacity kanálů uváděné v iontech se spočte průtok kanálem za čas otevření a tento průtok jde po koncentračním gradientu:

$$J = c * (1 - i) * o * t$$

kde J je tok iontů kanálem, c je počet kanálů v dané buňce, i je procento inhibovaných kanálů, o je procento otevřených kanálů a t je velikost časového kroku. Je počítáno s tím, že jedním druhem kanálu může procházet pouze jeden druh látek, tudíž reálné kanály, které jsou propustné pro více druhů látek, je potřeba nahradit více typy kanálů. (Alberts)

3.6. Iontové pumpy

V modelu jsou zahrnuty 3 typy iontových pump, a to pumpy fungující principem uniportu, antiportu a symportu.

Uniport funguje tak, že transportují pouze 1 látku z jednoho prostředí do druhého, přičemž to probíhá za spotřeby ATP, což v tomto modelu není zahrnuto. Na základě koncentrace transportované látky v počátečním prostředí se pomocí kinetiky Michaelis-Mentové vypočítá rychlostní konstanta ATPázy a na základě kinetiky 1.řádu se spočte transportovaná látka za daný časový krok:

$$v = \frac{v_{max}[F]}{K_d + [F]}$$

kde v je spočtená rychlostní konstanta, v_{\max} je maximální rychlostní konstanta, K_d je disociační konstanta a $[F]$ je koncentrace transportované látky.

Antiport je navržen obdobným způsobem jako uniport, pouze s tím rozdílem, že se rychlostní konstanta spočte pro obě látky a vezme se v úvahu pouze ta nižší z nich. A opět se počítá s kinetikou 1. řádu pro obě látky.

Symport je navržen obdobně. Stejně jako u antiportu se vezme nižší ze dvou vypočtených rychlostních konstant, avšak počítá se již s kinetikou 2. řádu. (Alberts, Katzung 1994)

3.7. Reakce

Model je navržen tak, že obsahuje 4 standardní chemické kinetiky, a to kinetiku 0. řádu, 1. řádu, 2. řádu a pseudoprvního řádu. Navíc ještě obsahuje jednu pseudokinetiku, která simuluje aktivaci G-proteinů receptory.

$$c = c_0 + kt$$

je kinetika 0. řádu, kde c_0 je počáteční koncentrace, c je cílová koncentrace, t je časový krok a k je rychlostní konstanta. Tato kinetika simuluje produkci jiných látek.

$$c = c_0 e^{-kt}$$

je kinetika 1. řádu, kde c_0 je počáteční koncentrace, c je cílová koncentrace, t je časový krok a k je rychlostní konstanta. Tato kinetika simuluje reakce typu $A \rightarrow$ produkty.

$$c_A = c_{A0} e^{-c_B kt}$$

je kinetika pseudoprvního řádu, kde c_{A0} je počáteční koncentrace látky A, c_A je cílová koncentrace, c_B je koncentrace látky B, t je časový krok a k je rychlostní konstanta. Tato kinetika simuluje reakce typu $A + B \rightarrow$ produkty, přičemž koncentrace látky B se v průběhu reakce nemění.

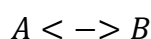
$$c = \frac{c_0}{2k t c_0 + 1}$$

je kinetika 2. řádu, kde c_0 je počáteční koncentrace, c je cílová koncentrace, t je časový krok a k je rychlostní konstanta. Tato kinetika simuluje reakce typu $2A \rightarrow$ produkty či reakce $A + B \rightarrow$ produkty, pokud jsou koncentrace látek A a B stejné.

$$x = \frac{e^{(c_B - c_A)kt} - 1}{\frac{e^{(c_B - c_A)kt}}{c_A} - \frac{1}{c_B}}$$

je kinetika 2. řádu, kde c_0 je počáteční koncentrace, x je změna koncentrací látek A a B, t je časový krok a k je rychlostní konstanta, c_A je počáteční koncentrace látky A a c_B je počáteční koncentrace látky B. Tato kinetika simuluje reakce typu $A + B \rightarrow$ produkty. (Connors 1991)

Pseudokinetika, která je vytvořena kvůli G-proteinům, funguje na základě rovnice



kde A jsou neaktivované G-proteiny a B jsou aktivované G-proteiny. G proteiny jsou jediné látky, které jsou v modelu umístěné na membráně a po aktivaci se aktivní umístí do sousedních buněk směrem do vnitřního prostředí s tím, že nedifundují. Jednotlivé koncentrace v dalším kroku se počítají následovně (Katzung 1994):

$$B = (A_0 + B_0) * (1 - \text{inhibovano}) * \text{aktivovano}$$

$$A = A_0 + B_0 - B$$

Všechny klasické chemické kinetiky, krom kinetiky 0. řádu, mohou být pouze ve dvou stavech, buď jsou v dané buňce aktivovány nebo ne. Kinetika 0. řádu bere v potaz i velikost aktivace tím, že se upraví její rychlostní konstanta. Se zpětnými či zřetěženými reakcemi při přímých výpočtech model nepočítá a v modelu jsou nahrazeny více reakcemi v jednotlivých směrech.

3.8. Mechanika modelu

Model je navržen tak, že se počítá po časových krocích, v nichž je ale odlišnost pro různé děje. Nejrychleji probíhá difuze, jejíž časový krok je pro každou látku jiný.

Časový krok pro každou látku je určen na základě toho, za jak dlouho může daná látka oddifundovat vzdálenost, která je mezi středy dvou buněk (difuzní vzdálenost).

$$L = \sqrt{Dt}$$

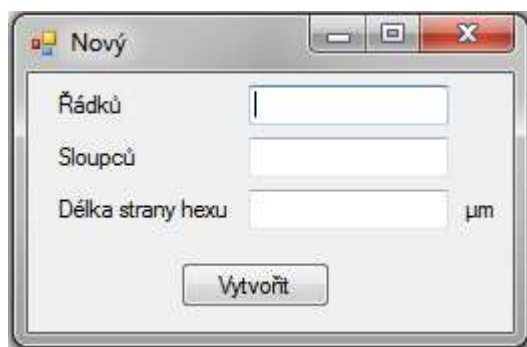
kde L je difuzní vzdálenost, D je difuzní konstanta dané látky a t je čas. Jelikož ostatní děje jsou závislé hlavně na tom, zda sem již oddifunduje potřebná látka, je časový krok pro všechny ostatní komponenty zvolen jako čtyřnásobek nejmenšího časového kroku pro difuzi. V celém modelu se počítá se základními jednotkami v ms a μm .

4. Uživatelská dokumentace

Součástí bakalářské práce je aplikace, která slouží k vytváření simulací a demonstrací představ, vycházející z pravidel, která si uživatel nadefinuje. Program běží pod platformou Windows a k jeho spuštění je třeba mít nainstalované .NET 4.0 a vyšší. Porozumění ovládání programu je nutnou podmínkou pro realizaci představ uživatele.

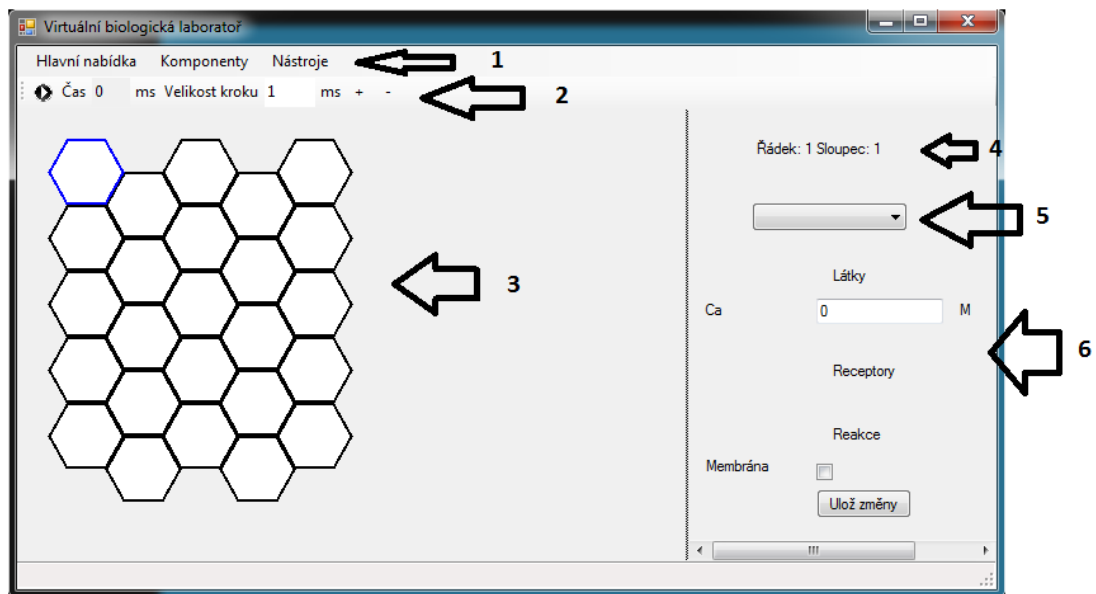
4.1. Uživatelské rozhraní

První věcí po úspěšném spuštění aplikace, kterou je potřeba udělat, je vytvoření nového simulačního prostředí přes dialog Nový (obr. 2) v Hlavní nabídce.



Obr. 2 - Dialogové okno Nový

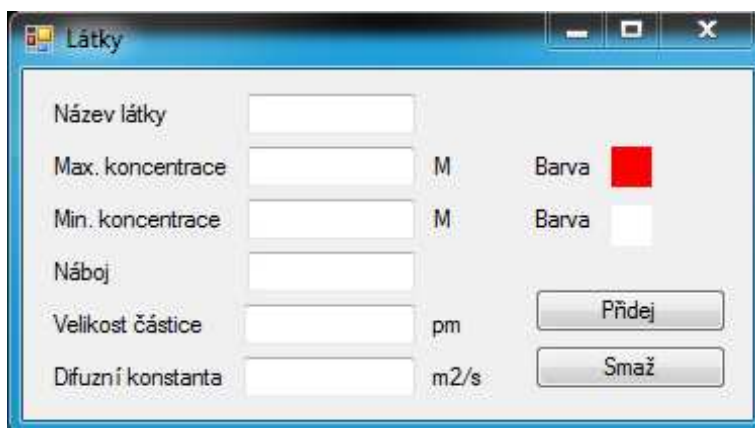
Zde je třeba vyplnit, jak velkou simulační mřížku chceme použít pro simulaci a jaká je velikost jedné strany šestiúhelníku v simulační mřížce. Po vytvoření nové simulace se dostáváme do hlavního simulačního prostředí (obr. 3).



Obr. 3 – Hlavní dialogové okno

- 1) Menu, pomocí kterého lze upravovat simulaci
- 2) Panel pro řízení běhu simulace
- 3) Zobrazení vlastního simulačního prostředí
- 4) Aktuálně vybraný a editovatelný hex (v simulačním prostředí orámován modře)
- 5) Výběr látky, u které bude v simulačním prostředí vyznačena barevně koncentrace
- 6) Možnosti editace vybraného hexu

Pomocí dialogových oken v menu Komponenty lze přidávat jednotlivé prvky do simulace.



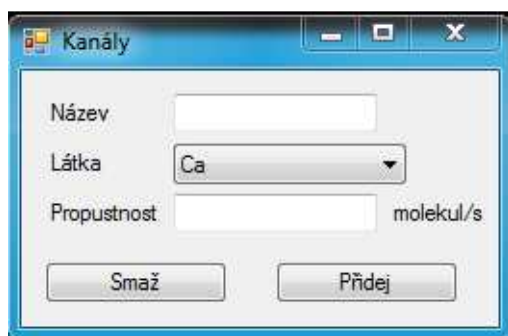
Obr. 4 – Dialogové okno Látky

Název látky – Pojmenování látky v daném modelu. Pojmenování všech součástí modelu musí být unikátní, zadáním názvu látky, která již existuje, jde editovat či odstranit.

Max. a Min. koncentrace – V simulačním prostředí se daná koncentrace dané látky, pokud je vybrána (obr. 3 – 5), označí barevně. Pokud je její koncentrace vyšší než max. koncentrace, má barvu uvedenou vpravo výše. Pokud je její koncentrace nižší než min. koncentrace, má barvu uvedenou níže. Pokud se nachází v rozmezí mezi max. a min. koncentrací, její barva se mění spojitě mezi zadanými barvami.

Náboj - Náboj částice je zadáván jako kladné či záporné celé číslo.

Velikost částice a Difuzní konstanta – Zadává se pouze 1 parametr. V případě, že se zadá velikost částice, spočítá se z něj difuzní konstanta, pokud ne, bere se difuzní konstanta z pole níže.

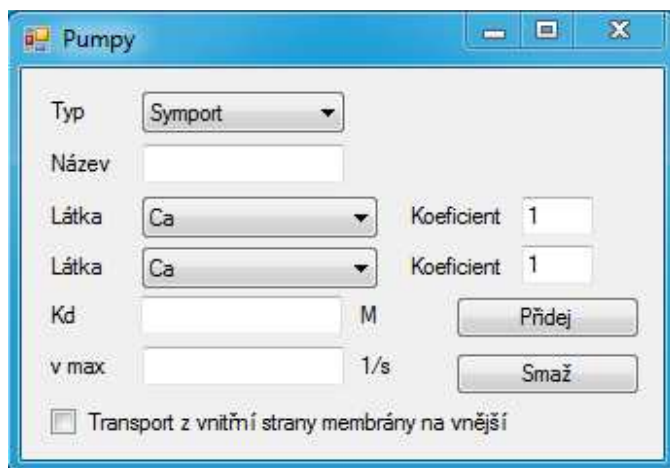


Obr. 5 – Dialogové okno Kanály

Název kanálu – Pojmenování kanálu v daném modelu. Pojmenování všech součástí v modelu musí být unikátní, zadáním názvu kanálu, který již existuje, jde editovat či odstranit.

Látka – Název látky, pro kterou je kanál propustný. Aby šel kanál vytvořit, musí daná látka již existovat.

Propustnost – Kapacita jednoho kanálu, kolik přetransportuje molekul za sekundu.



Obr. 6 – Dialogové okno Pumpy

Typ – Typ pumpy, v případě uniportu vyplňujeme pouze první látku.

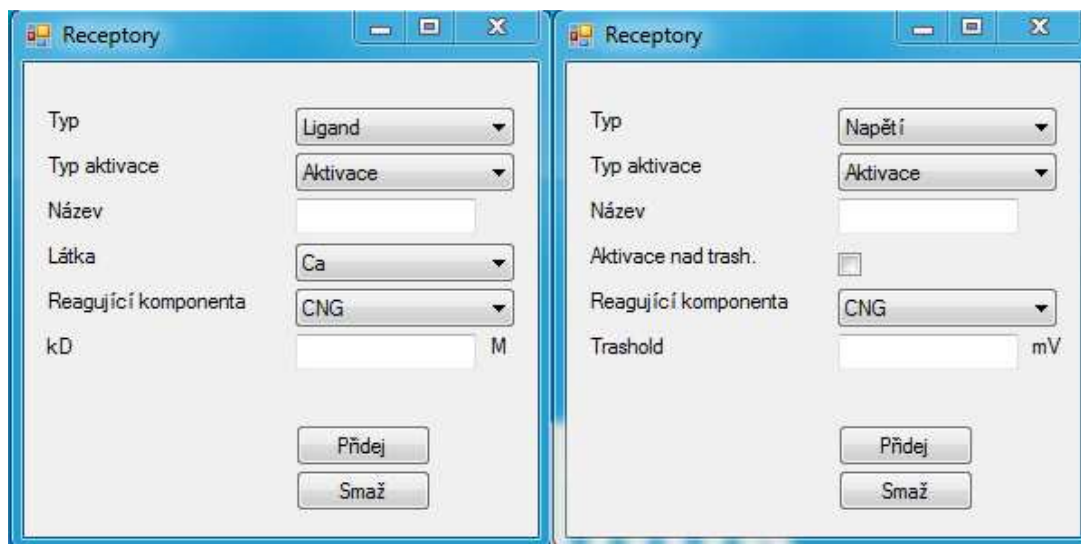
Název pumpy – Obdobně jako u látek a kanálů.

Látka – První látka udává látku, která se bude transportovat v daném směru. U Uniportu a Symportu na pořadí nezáleží, u Antiportu je důležité dbát na pořadí látek, jelikož druhá je transportována opačným směrem. Opět se zadává název látky jako u kanálů.

Koeficient – Stechiometrický koeficient daných látek. Pokud by pumpa pracovala jako $2\text{Na}/3\text{K}$, tak by koeficient u Na měl hodnotu 2 (stejný řádek) a u K měl hodnotu 3.

Kd a v max – Konstanty charakterizující rychlost práce pumpy a její koncentraci na membráně.

Transport ven – Proměnná charakterizující směr transportu. Při zaškrtnutí se látky (u antiportu 1. látka) transportují z vnitřního prostředí do vnějšího.



Obr. 7 – Dialogové okno Receptory

Typ – Zda je receptor napěťově či ligandem ovládaný.

Typ aktivace – Zda má receptor aktivační či inhibiční aktivitu.

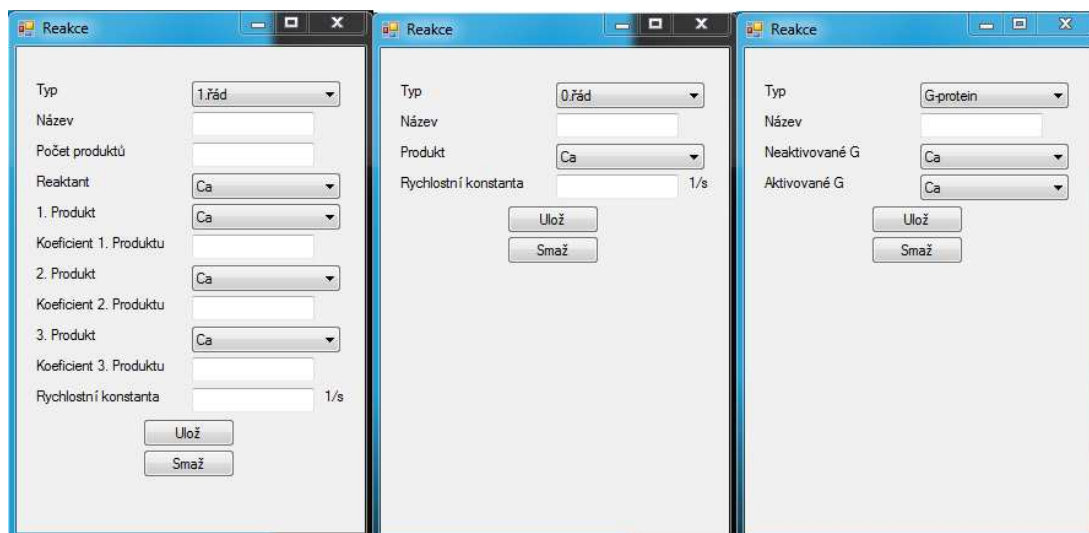
Název – Jako viz. výše.

Reagující komponenta – Název komponenty (kanálu, pumpy, reakce), kterou receptor aktivuje či inhibuje; opět v tuto chvíli již musí existovat.

Látka – Název látky, na kterou receptor reaguje.

Kd – Konstanta charakterizující aktivitu receptoru.

Nad trasholdem – Proměnná charakterizující, zda je receptor aktivní, pokud je membránový potenciál nad trasholdem (konstanta viz níže).



Obr. 8 – Dialogové okno Reakce

Typ – Typ přidávané reakce.

Název – Jako viz. výše.

Reaktanty, Produkty a Koeficienty – Jsou vyjádření chemických rovnic tvaru

1. Reaktant + 2. Reaktant

→ 1. koef. 1. produkt + 2. koef.* 2. produkt + 3. koef.* 3. produkt*

přičemž daná rovnice nemusí obsahovat vše. Reaktanty a produkty se zadávají opět jako názvy již existujících látek, koeficienty jsou přirozená čísla.

Počet produktů - Udává, kolik je na pravé straně rovnice produktů. Pokud je jich méně než 3, pole těchto produktů se nevyplňují.

Rychlostní konstanta – Parametr charakterizující rychlost reakce.

Neaktivované a Aktivované G proteiny – Opět názvy látek z rovnice $A \leftrightarrow B$.

4.2. Další funkce aplikace

V panelu Nástroje je 7 dalších funkcí programu.

Funkce Kopíruj membránu – Pokud je vybrána membrána, zkopíruje veškeré vlastnosti a komponenty dané membrány na všechny ostatní membrány, které jsou s touto membránou spojeny.

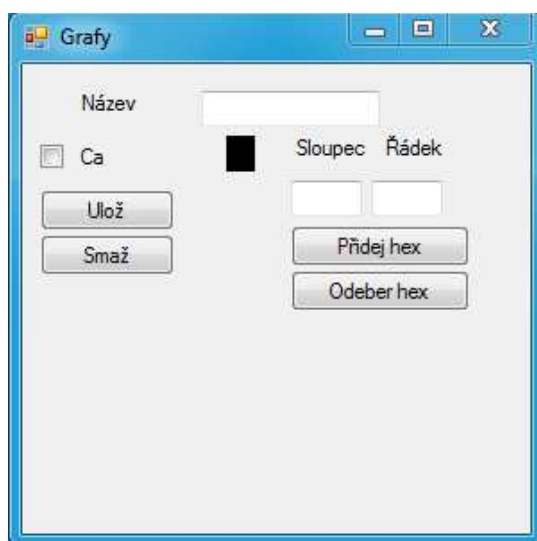
Funkce Kopíruj mimo membránu – Pokud není vybrána membrána, zkopíruje veškeré vlastnosti a komponenty daného hexu na všechny ostatní hexy, které nejsou od tohoto hexu odděleny membránou.

Funkce Kopíruj u membrány – Pokud je vybrán hex, který není membrána, ale nějaký jeho soused je membrána, zkopíruje se na všechny hexy, které jsou s ním spojeny tak, že se nacházejí na stejné straně této membrány a jsou těsně u ní.

Funkce Nastav vnitřek – Nutná funkce pro spuštění simulace, pokud obsahuje pumpu. Označí vybraný hex jako vnitřní a všechny ostatní hexy s ním spojené a neoddělené membránou. Takto lze označit i více hexů.

Funkce Vymaž vnitřek – vymaže všechny hexy, které byly nastaveny jako vnitřní předchozí funkcí.

Funkce Graf – otvírá dialogové okno s nastavením nového grafu. Po jeho uložení již graf sbírá data



Obr. 9 – Dialogové okno Graf

Název – název grafu. Jako výše.

Levý sloupec – zaškrtnutí látek, které mají být do grafu zahrnuty, vpravo od něj jsou barvy látek v grafu, kliknutím lze změnit. Pro vytvoření grafu musí být vybrána minimálně 1 látka.

Pravý sloupec – souřadnice hexu, z nějž se má zaznamenávat do grafu koncentrace v čase. Tlačítkem přidej hex, lze přidávat další pole pro vyplnění souřadnic hexu, pokud jich je vyplněno více, bere se průměr.

Funkce Vykresli grafy – vykreslí všechny uložené grafy s jejich nasbíranými hodnotami. (Pro sběr hodnot je třeba spustit simulaci)

V panelu pro řízení běhu simulace.

Tlačítko pro vykonání kroku simulace.

Čas od počátku simulace.

Velikost jednoho kroku simulace

Tlačítka pro Zoom.

V hlavní nabídce.

Funkce Uložení modelu – výběr adresáře, kam se má model uložit.

Funkce Načtení modelu – výběr adresáře, kde se nachází uložený model

4.3. Vytváření simulací

Krom připravených simulací, které jsou přiložené, je toto postup vytváření vlastních simulací:

- 1) Vytvoření nového prostředí
- 2) Vytvoření veškerých látek potřebných v dané simulaci
- 3) Vytvoření veškerých kanálů, pump a reakcí dané simulace

- 4) Vytvoření veškerých kanálů dané simulace
- 5) V simulačním prostředí vytvoření membrány (u vybraného hexu zaškrtnout membrána a poté Ulož změny)
- 6) Pro veškeré hexy vyplnit jejich vlastnosti (koncentrace kanálů, koncentrace látek, zda obsahují receptory, pumpy, zda na nich probíhají nějaké reakce obr.3-6) (výhodné použití nástrojů)
- 7) Označení vnitřku (nástroje – Vnitřek)
- 8) Nastavení velikosti časového kroku simulace (obr. 3-2)
- 9) Uložení
- 10) Krokování simulace pomocí tlačítka se šipkou (obr. 3-2)

5. Simulace

V této kapitole probereme slibovaný model signální transdukce v čichovém sensorickém neuronu a model synaptického přenosu v CNS.

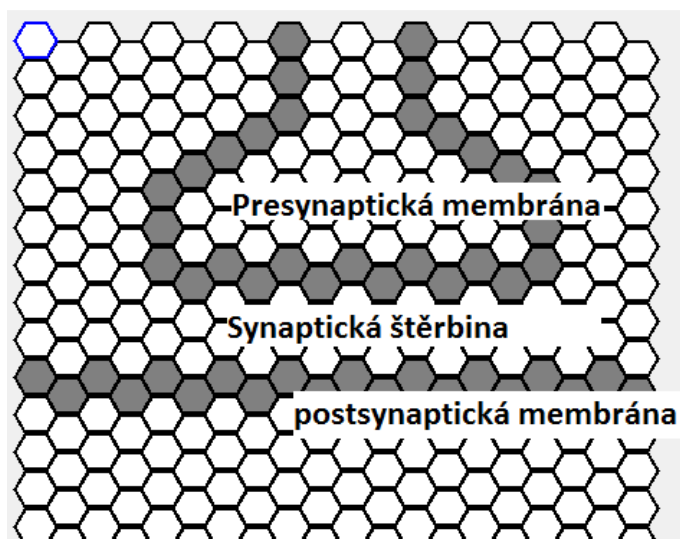
5.1. Model synaptického přenosu v CNS

5.1.1. Biologický popis modelu

Zde si popíšeme přenos signálu v synaptické štěrbině. Přenos signálu je zahájen vzruchem přicházejícím z těla neuronu, který na postsynaptické štěrbině vyvolává otevření napěťově ovládaných Ca kanálů, kterými vtéká vápník do buňky. Vápník v buňce způsobuje fúzi váčků naplněných acetylcholinem s membránou, což způsobuje vylití acetylcholinu do synaptické štěrbině. Na postsynaptické membráně se nacházejí NMDA kanály, které se po navázání acetylcholinu otevírají a dělají membránu propustnou pro Na. Vtok Na do buňky způsobuje depolarizaci membrány, což je vznik akčního potenciálu na cílovém neuronu. V synaptické štěrbině se nachází acetylcholin esteráza, která rozkládá acetylcholin na cholin, který je zpětně vychytáván pro tvorbu nového acetylcholinu.

5.1.2. Popis modelu

Náš model, který je přiložen na CD, obsahuje v horní části postsynaptickou membránu a ve spodní části presynaptickou membránu. Postsynaptická membrána obsahuje NMDA_k které jsou propustné pro Na. Jsou otvírány NMDA_r které se nacházejí v synaptické štěrbině u postsynaptické membrány a jsou citlivé na acetylcholin. V synaptické štěrbině probíhá reakce, která simuluje činnost acetylcholin esterázy (AChE). Je to reakce 1.řádu, která přeměňuje acetylcholin na cholin. Synaptické váčky jsou simulovány Ach_k, které se nacházejí v presynaptické membráně a jsou propustné pro acetylcholin (ACh). Jsou otvírány Ach_r které jsou citlivé na spouštěcí látku. Spouštěcí látkou je simulován počáteční signál a proto je velmi rychle přeměňována na látku odpadní pomocí reakce odpad.



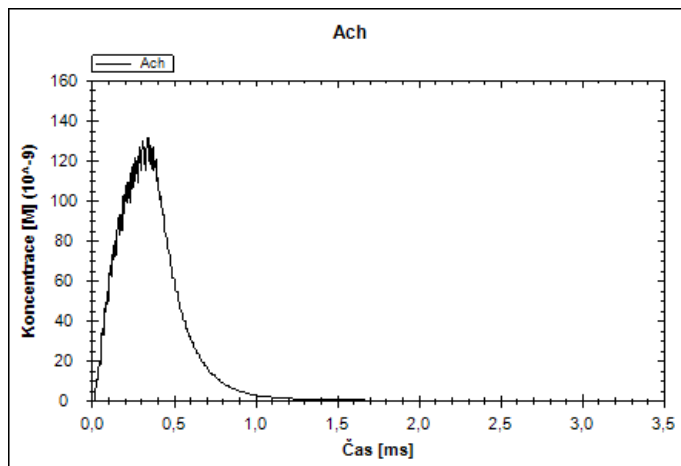
Obr. 10 – model synapse

5.1.3. Pozorování z modelu

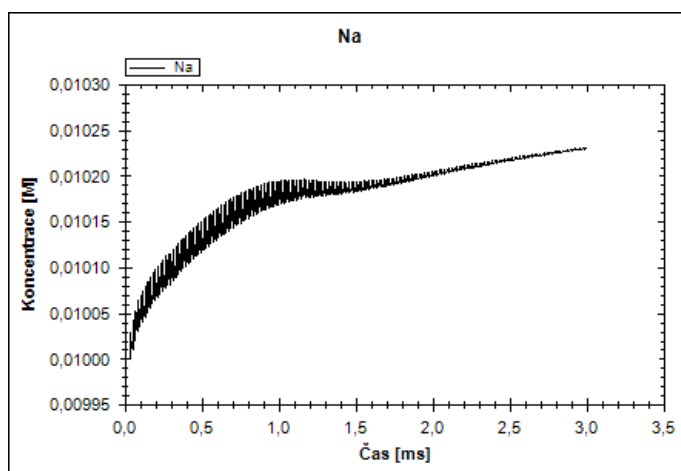
Spouštěcí látka otevírá Ach_k na zhruba 0,3 ms, což odpovídá vylití 4000 molekul Ach, což odpovídá biologické skutečnosti, kdy je při jednom výlevu do synaptické vylito mezi 10 až 100 váčky obsahujícími 40 – 60 molekul acetylcholinu.

Synaptické zpoždění z přenosu mezi membránami je v biologické realitě okolo 0,5 ms. Přičemž vychytávání a degradace acetylcholinu ze synaptické štěrbině je stovek ns. V modelu vydíme, že nejvyšší koncentrace Ach je v synaptické štěrbině zhruba 0,5 ms od počátku simulace, což značí, že v této chvíli bude otevřeno i maximální množství NMDA kanálů tudíž bude i maximální depolarizace membrány způsobená vtokem Na do buňky. Odpovídající data máme i ze sledování změn koncentrace Na za postsynaptickou membránou. To odpovídá vtoku cca 5 000 000 molekul Na, což způsobuje depolarizaci membrány o cca 50 mV. Toto je opět v souladu s biologickými daty. (Jahr 1990, Parsons 1993, Edelstein 1996)

Na základě tohoto lze usuzovat, že tento model je funkční s použitými metodami na tomto případě.



Obr. 11 – koncentrace Ach v synaptické štěrbině



Obr. 12 – koncentrace Na za postsynaptickou membránou

5.2. Model signální transdukce v čichových senzoryckých neuronech

5.2.1. Biologický popis modelu

Zde si popíšeme část signální dráhy, kterou bereme v úvahu. Prvním prvkem je odorant, který vazbou na receptory spřažené s G-proteiny na extracelulární straně membrány inicializuje jejich rozpad na $G\alpha$ a $G\beta+\gamma$. Podjednotka $G\alpha$ poté aktivuje Adenylátcyklázu, jejíž činnost způsobuje přeměnu ATP na cAMP. Vazba cAMP na CNG kanál způsobuje jeho otevření a vnik iontů Ca^{2+} do intracelulárního prostředí. Zde se váží na CaM (calmodulin) za vzniku CaM4, který hraje velkou roli při zpětné vazbě. V našem modelu uvažujeme pouze rychlou odpověď v řádu milisekund, maximálně desítek milisekund, tudíž ze zpětných vazeb bereme v úvahu pouze vazbu CaM4 na CNG kanály, čímž se inhibují.

5.2.2. Popis modelu

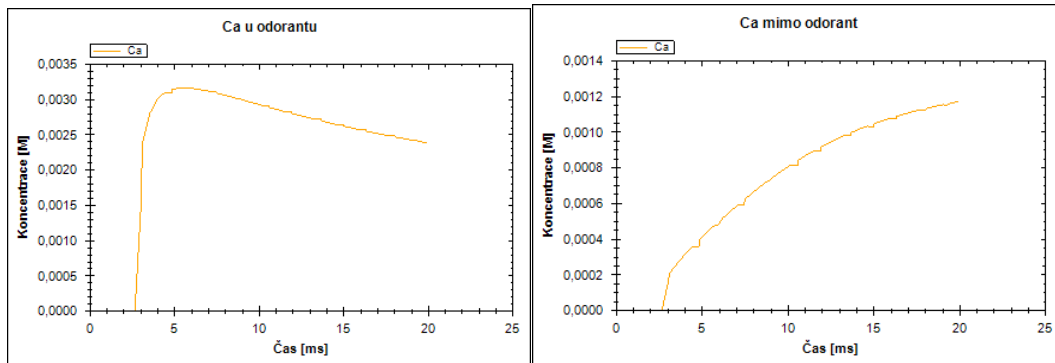
Náš model, jenž je přiložen na CD, je rozdělen membránou na 2 části; vlevo je extracelulární prostor a vpravo je intracelulární prostor. Těsně u membrány se nacházejí receptory detekující odorant (GPr). Receptory jsou spojeny s pseudorovnicí způsobující aktivaci G-proteinů (Gprotein), kde neaktivní G-proteiny jsou na membráně (G_0) a aktivní G-proteiny (G_1) jsou na sousedních políčkách v intracelulárním prostředí. Pro zjednodušení jsou dále sloučeny 2 rovnice, tudíž rovnice (AC) zahrnuje rovnou přeměnu ATP na cAMP za katalýzy G_1 . cAMP se v intracelulárním prostředí váže na receptory (CNGa) aktivující CNG kanály. Jejich otevření způsobuje vtok Ca^{2+} . To se okamžitě váže na CaM za vzniku CaM4 (CaM4 – reakce). Receptory přilehlé vnitřní straně intracelulární membrány obsahují receptory (CNGi), na něž se váže CaM4, což způsobuje inhibici CNG kanálů.

5.2.3. Pozorování z modelu

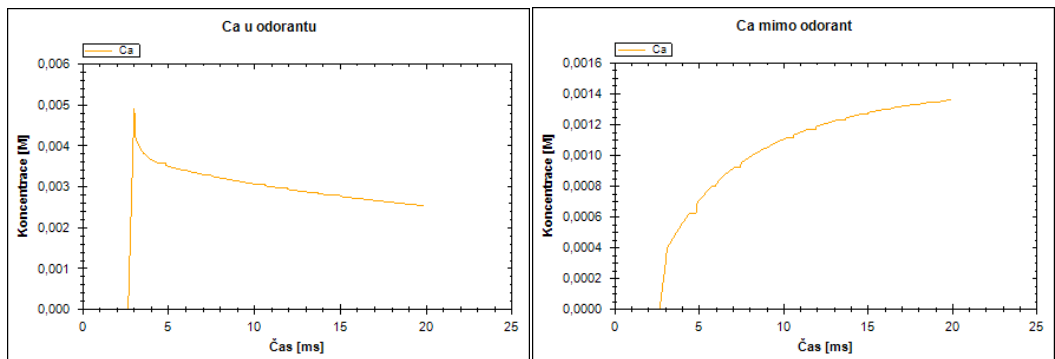
Při zkoumání chování modelu na základě různých vstupů se model chová dle biologických údajů. Pro důkladnější porovnání jsem zvolil konfiguraci slabého (0,001M) a silného (1M) vystavení odorantu na pozici řádek 6 sloupec 8, a na dvojici

pozic řádek 6 sloupec 8 a řádek 12 sloupec 8. Data hladiny Ca uvnitř neuronu byla sbírána z pozic řádek 6 sloupec 6 (pozice u odorantu) a řádek 9 sloupec 6 (pozice mimo odorant). Při analýze jednoho zdroje jakkoliv silného jsou větší rozdíly patrné pouze v nejbližším okolí zdroje. Tento poznatek se shoduje s většinou biologických teorií, které tvrdí, že k vyvolání receptorového potenciálu je třeba stimulace na více místech cilia, ať jsou tyto stimulace jakkoliv silné, tak vyvolají pouze místní depolarizaci. Výrazné rozdíly se již projevují při analýze 2 zdrojů. V místě odorantu v tomto případě nejsou patrné žádné větší změny, pořád dochází k lokální depolarizaci pro kterou je třeba hladina aspoň 1,5 mM (přepočítána kvůli zahrnutí vlivů, které nejsou v simulaci). Avšak v místě mezi zdroji je již vidět podstatný rozdíl, kdy stimulace 2 silnými zdroji vyvolá silnou depolarizaci, která prostoupí celým ciliem a vyvolá receptorový potenciál. Stimulace 2 slabými zdroji v čase 20 ms (po kterém se začínají projevovat i další zpětné negativní vazby) dosahuje pouze hranice pro vyvolání většího šíření. Toto potvrzuje i ty biologické teorie, které říkají, že při nízké koncentraci odorantu je třeba stimulace celého cilia pro vyvolání odpovědi, zatímco při vyšší koncentraci stačí stimulace pár míst na ciliu.

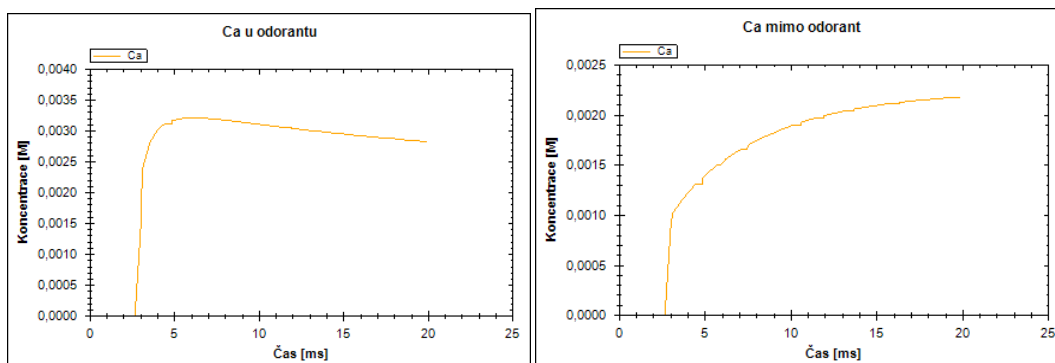
Na základě tohoto lze usuzovat, že pro modelování signální transdukce se použité metody jeví jako použitelné, i když pro detailnější zkoumání by chtěl udělat model v podrobnějším měřítku se zahrnutím dalších skutečností. (Kleene 2008, Reidl 2006, Halnes 2009, Castillo 2010, Bhandawat 2010)



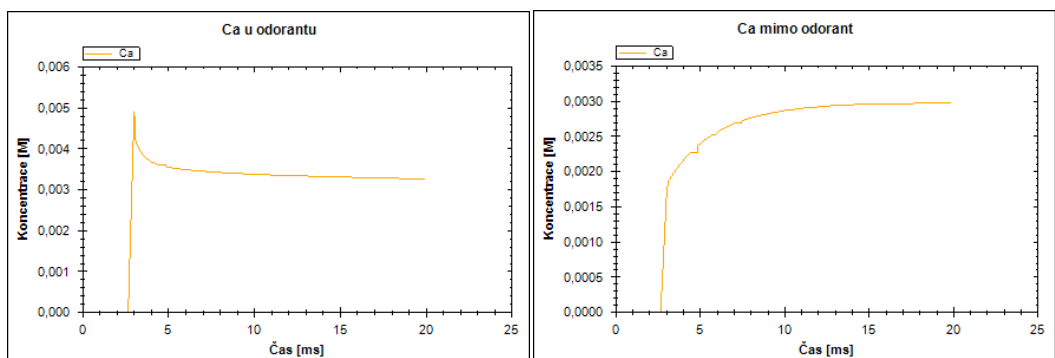
Obr. 13 – koncentrace Ca z 1 slabého zdroje



Obr. 14 – koncentrace Ca z 1 silného zdroje



Obr. 15 – koncentrace Ca ze 2 slabých zdrojů



Obr. 16 – koncentrace Ca ze 2 silných zdrojů

6. Programátorské poznámky

6.1. Hardwarové a softwarové nároky

Program běží pod platformou MS Windows 7 a novější (na starších nebyl testován). Je poměrně malý (v řádech kB), ale potřebuje k běhu nainstalované .NET Framework 4.0 a vyšší. Byl plně odzkoušen na níže uvedené konfiguraci, avšak minimální HW nároky nebyly stanoveny. Program byl vyvíjen v prostředí Microsoft Visual Studio 2010 v jazyku C# a využívá prostředků .NET Framework 4.0 a vyšší. Pro vykreslování grafů byla použita knihovna ZedGraph verze 5.0.9.

Procesor	IntelCore i5-2410M/2.3GHz
Paměť	4096 MB
Grafická karta	nVidia NVS 4200M
System	Windows 7 (64 bit)

6.2. Struktura aplikace

Aplikace se skládá z 24 tříd, z nichž 7 tříd slouží pouze jako dialogová okna pro zadání uživatelského vstupu a 9 tříd slouží jako datové struktury pro vnitřní ukládání dat.

6.2.1. Dialogová okna

Class Form2 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry jedné látky.

Class Form3 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry jednoho kanálu.

Class Form4 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry jedné pumpy.

Class Form5 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry jednoho receptoru.

Class Form6 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry jedné reakce.

Class Form7 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry pro vytvoření nového modelu.

Class Form8 – je dialogové okno pro zadání uživatelského vstupu. Uživatelský vstup jsou v tomto případě parametry jednoho grafu.

Class Form9 – je dialogové okno, kde je pomocí knihovny ZedGraph vykreslen graf na základě schromážděných dat.

6.2.2. Datové struktury

Class Komponenta – slouží jako datová struktura, kde jsou uchovávány některé vlastnosti, které jsou společné pro kanál, pumpu a reakci.

Class Latka – slouží jako datová struktura pro uchovávání všech parametrů a vlastností jedné látky.

Class Kanal - slouží jako datová struktura pro uchovávání všech parametrů a vlastností jednoho kanálu a je potomkem třídy Komponenta.

Class Reakce - slouží jako datová struktura pro uchovávání všech parametrů a vlastností jedné reakce a je potomkem třídy Komponenta.

Class Pumpa - slouží jako datová struktura pro uchovávání všech parametrů a vlastností jedné pumpy a je potomkem třídy Komponenta.

Class ReceptorL - slouží jako datová struktura pro uchovávání všech parametrů a vlastností jednoho ligandem řízeného receptoru.

Class ReceptorV - slouží jako datová struktura pro uchovávání všech parametrů a vlastností jednoho napětím řízeného receptoru.

Class Save – slouží jako pomocná datová struktura pro ukládání a načítání. Zahrnuje veškeré další parametry modelu, které nejsou obsaženy v předchozích třídách.

Class Graf – slouží jako datová struktura pro uchování všech parametrů a vlastností jednoho grafu.

6.2.3. Ostatní třídy

Class Form1 – je hlavní třída aplikace, která po spuštění neustále běží. Pomocí událostí odchyťává data z dialogových oken a ukládá je do 8 ArrayList jako jednotlivé datové struktury které vytvoří (každá datová struktura má vlastní ArrayList, krom Komponenta a Save, které slouží pouze jako pomocné). Obsahuje procedury *splitContainer1_Panell_Paint* a *Vytvor_panel2*, které řídí vykreslování hlavního dialogového okna, proceduru *potencial*, která spočte membránový potenciál, procedury *Vytvor_Uloz* a *Vytvor_Nacti*, které řídí ukládání a načítání a proceduru *play_Click*, která je hlavní běhová procedura řídící simulaci, a proceduru *Aktualizuj_graf*, která doplňuje aktuální data, jako body do grafů.

potencial

- Pro každé políčko obsahující membránu
 - Spočti Goldmanovu rovnici (pro každou látku přidej odpovídající parametry k čitateli a jmenovateli a po provedení všech poděl jako v goldmanově rovnici)

play_Click

- Pomocí souřadnic hexů ve vnitrni, přepočti které hexy jsou vnitřní a které nejsou (prohledávání do šířky)
- While $cas + cas_krok > aktualni_cas$
 - Najdi látku s nejmensim casem dalsiho difuze
 - If $cas\ difuze\ latky < nedif$ (cas vyhodnoceni všech komponent)
 - Difunduj látku
 - Cas vyhodnoceni latky $+= cas_next$ (cas s difuzni vzdalenosti)
 - Aktualizuj_graf (nova data z prave difundovane latky)
 - Else
 - Pro každý ReceptorL zavolej ReceptoryL
 - Zavolej potencial
 - Pro každý ReceptorV zavolej ReceptoryV
 - Pro každý Kanal zavolej Kanaly
 - Pro každou Pumpu zavolej Pumpy
 - Pro každou Reakce zavolej Reakcy
 - Pro každou látku zavolej Aktualizuj graf
 - Nalezni min cas_next z látek
 - Nedif $+= min\ cas_next * 4$

Class Difuze – je třída, která se zabývá difuzí látek. Na vstupu dostává jednu látku a vrací pole jejích koncentrací po 1 kroku difuze.

- Create final //vytvori prázdné vystupní pole
- Pro každé políčko
 - Spočti rozdíl koncentrací mezi ním a každým jeho susedem
 - Spočti difúzní tok z políčka do každého jeho suseda
 - Pokud je zbytek na políčko menší než $1/7$ původní hodnoty, přenásob všechny toky tak, aby zbyla $1/7$
 - Ke všem políčkům (dané políčko a jeho susedi) přičti difúzní tok do něj (či zbytek na daném políčku)
- Vrať final

Class Kanaly – je třída, která řídí tok látek iontovými kanály. Na vstupu dostane 1 látku a 1 kanál a vrátí finální pole koncentrace látky.

- Pro každé políčko s membránou obsahující tento kanál
 - Vytvoř 2 skupiny hexů na rozdílných stranách membrány susedící a spočti průměrnou koncentraci
 - Spočti kapacitu kanálu (včetně zahrnutí zavřených a inhibovaných kanálů)
 - Po koncentračním gradientu přesuň danou kapacitu
 - Uprav koncentraci na políčkách obou skupin (odečti s vyšší koncentrací, přičti s nižší koncentrací)
- Vrať koncentraci látky

Class Pumpy - je třída, která řídí tok látek pumpami. Na vstupu dostane 2 látky a 1 pumpu a vrátí 2 finální pole koncentrací látek.

- Pro každé políčko s membránou obsahující tuto pumpu
 - Vytvoř 2 skupiny hexů na rozdílných stranách membrány susedící
 - Spočti kapacitu pumpy
 - Dle typu pumpy presuň látky ve správném směru
 - Uprav koncentraci na políčkách obou skupin
- Vrať koncentrace látek

Class Reakcy - je třída, která řídí průběh reakcí. Na vstupu dostane 5 látek a 1 reakci a vrátí 5 finálních polí koncentrací látek.

- Pro každé políčko obsahující tuto reakci
 - Dle typu reakce spočti změnu koncentrací všech látek účastnících se reakce
 - Uprav koncentraci na políčku
- Vrať koncentrace látek

Class ReceptoryV – je třída, která řídí napěťově ovládané receptory. Na vstupu dostane receptor, jeho cílovou komponentu a pole membránových potenciálů a vrátí 2 pole. Jedno obsahuje procentuelní inhibici komponenty, druhé procentuelní aktivaci komponenty.

- Pro každé políčko s membránou obsahující tento receptor a jeho cílovou komponentu
 - Zkontroluj zda je receptor aktivní (potenciál je nad či pod trasholdem)
 - Nastav aktivitu komponenty na 1 či 0 (plná inhibice(otevření) či žádná inhibice(otevření))
- Vrať komponentu

Class ReceptoryL – je třída, která řídí ligandem ovládané receptory. Na vstupu dostane receptor, jeho cílovou komponentu a látku a vrátí 2 pole. Jedno obsahuje procentuelní inhibici komponenty, druhé procentuelní aktivaci komponenty.

- Pro každé políčko obsahující tento receptor
 - Nalezni všechny cílové komponenty na sousedních políčkách
 - Vypočti aktivitu receptoru
 - Nastav aktivitu komponenty
- Vrať komponentu

6.3. Ukládání a načítání

Ukládání probíhá tak, že se nejprve vytvoří pomocná datová struktura Save, která obsahuje veškeré proměnné, které nejsou v ArrayList, a poté se provede Serializace a uloží se jako binární soubor. Následně se pro každý prvek v ArrayListech, krom ArrayListu grafy a vnitrek, provede taktéž Serializace a výsledek se uloží jako soubor. Při uložení vzniká n souborů v jedné složce, kde n je počet prvků ve všech ArrayListech (krom vnitřní a grafy) + 1. Hlavní soubor má název main.sav ostatní soubory jsou označeny zkratkou názvu o jaký typ komponenty jde a pořadovým číslem.

Načítání probíhá tak, že se nejprve načte soubor main.sav, díky čemuž jsou známy velikosti všech datových struktur, které je třeba vytvořit a i jména všech souborů k načtení.

7. Závěr

Na základě biologických motivací jsme vybudovali náš představovaný model a simulační program, který umožňuje volně projektovat představy jakéhokoliv uživatele. Chtěli jsme vytvořit jednoduchý model entit, který ale ve svém důsledku obsáhne složitější systémy. Dokázali jsme namodelovat Signální dráhu v čichovém sensorickém neuronu, která se chovala obdobně jako v reálných biologických pokusech a teoriích. Dále byl zhotoven i model Synapse v CNS, který opět poskytoval výsledky srovnatelné s realitou. Zhotovený program nám umožňuje simulovat různé situace, dokonce i situace, o kterých jsme se ani nezmiňovali. Práce samotná nabízí široká pole možností pro rozšíření. Například zahrnutí třetího rozměru, který občas hraje při dějích na membránách velkou roli.

8. Použitá literatura

Alberts, B., a kol. 2005. Základy buněčné biologie. Espero Publishing.

Bartovská, L., Šišková, M. 2005: Co je co v povrchové a koloidní chemii [elektronická publikace]. Získáno z http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/.

Beneš, M. (2012). Signální transdukcce v čichových senzoričkých neuronech obratlovců a nástroje pro její počítačovou simulaci. Bakalářská práce. Praha: Univerzita Karlova v Praze.

Connors, K.A. (1991). Chemical Kinetics, the study of reaction rates in solution. VCH Publishers.

Sparks, D.L. (1988). Kinetics of Soil Chemical Processes. Academic Press.

Katzung B.: Základní a klinická farmakologie, Nakladatelství H & H, 1994.

Kleene, Steven J. The Electrochemical Basis of Odor Transduction in Vertebrate Olfactory Cilia. *Chemical Senses*. 2008, č. 33, s. 839-859.

JAHN, Craig E. a Charles F. STEVENS. A quantitative description of NMDA receptor-channel kinetic behavior. *The Journal of Neuroscience*. 1990, 10(6), s. 1830-1837.

PARSONS, Stanley M. Acetylcholine transport, storage and release. *International review neurobiology*. 1993, č. 35.

EDELSTEIN, Stuart J. A kinetic mechanism for nicotinic acetylcholine receptors based on multiple allosteric transitions. *Biological Cybernetics*. 1996, č. 5.

REIDL, J., P. BOROWSKI, A. SENSSE, J. STARKE, M. ZÁPOTOCKÝ a M.

EISWIRTH. Model of Calcium Oscillations Due to Negative Feedback in Olfactory Cilia. *Biophysical Journal*. 2006, č. 90, s. 1147-1155.

HALNES, Geir, Erik ULFHIELM, Emma Eklöf LJUNGGREN, Jeanette Hellgren

KOTALASKI a Jean-Pierre ROSPARS. Modelling and sensitivity analysis of the reactions involving receptor, G-protein and effector in vertebrate olfactory receptor neurons. *Journal of Computational Neuroscience*. 2009, č. 27, s. 471-491.

BHANDAWAT, Vikas, Johannes REISERT a King-Wai YAU. Signaling by olfactory receptor neurons near threshold. *PNAS*. 2010, č. 107, s. 18682-18687.

CASTILLO, Karen, Diego RESTREPO a Juan BACIGALUPO. Cellular & molecular Ca²⁺ microdomains in olfactory cilia support low signaling amplification of odor transduction. *European Journal of Neuroscience*. 2010, vol. 32, issue 6, s. 932-938.

9. Seznam obrázků

Obr. 1 - Signální transdukce pro generování receptorového potenciálu.....	10
Obr. 2 - Dialogové okno Nový.....	20
Obr. 3 – Hlavní dialogové okno.....	21
Obr. 4 – Dialogové okno Látky.....	21
Obr. 5 – Dialogové okno Kanály	22
Obr. 6 – Dialogové okno Pumpy.....	23
Obr. 7 – Dialogové okno Receptory	24
Obr. 8 – Dialogové okno Reakce	25
Obr. 9 – Dialogové okno Graf.....	26
Obr. 10 – model synapse.....	30
Obr. 11 – koncentrace Ach v synaptické štěrbině.....	31
Obr. 12 – koncentrace Na za postsynaptickou membránou.....	31
Obr. 13 – koncentrace Ca z 1 slabého zdroje.....	34
Obr. 14 – koncentrace Ca z 1 silného zdroje	34
Obr. 15 – koncentrace Ca ze 2 slabých zdrojů.....	34
Obr. 16 – koncentrace Ca ze 2 silných zdrojů	34