



**Vilniaus universitetas
Duomenų mokslo ir skaitmeninių
technologijų institutas
LIETUVA**



INFORMATIKA (N009)

KOMPIUTERIO MOKYMO METODAI FIZIKINIŲ IR BIOCHEMINIŲ DUOMENŲ ANALIZĖJE

Tomas Raila

2020 m. spalio

Mokslinė ataskaita DMSTI-DS-N009-20-18

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

LT-08412

www.mii.lt

Santrauka

Naudojant baigtinių elementų metodą (FEM) sudaromi ir analizuojami trimačiai membranų modeliai su įvairiais defektų dydžiais, tankiais bei išsibarstymo tipais. Tiriama skirtingų defektų klasterizacijos tipų įtaka membranų savybėms. Gauti modeliavimo rezultatai siejami su laboratorijoje gaunamais realiais mikroskopijos bei spektroskopijos duomenimis. Nagrinėjami praktiniai FEM taikymo klausimai, tokie kaip optimalaus tinklelio tankio, tiesinių lygčių sistemų sprendimo metodo ar skaičiavimų aplinkos parinkimas. Taip pat tiriamas membranų defektų klasterizacijos reiškinys, taikant du skirtingus teorinius klasterizacijos modelius. Sintetiškai sugeneruoti defektų išsidėstymai lyginami su eksperimentiškai užregistruotais.

Raktiniai žodžiai: fosfolipidinės membranos, elektrocheminio impedanso spektroskopija, baigtinių elementų metodas, membranų defektai, klasterizacija, Voronojaus diagramos

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	Ekspirimentinis defektų išsidėstymas.....	8
4.3	Palyginimas su realiais EIS spektrais	10
5	Modeliavimo proceso optimizavimas	11
5.1	Tinklelio generavimas	11
5.2	TLS sprendimo metodo parinkimas	12
5.2.1	Tiesioginis algoritmas	13
5.2.2	Iteracinis algoritmas	13
5.3	Skaičiavimų trukmė	15
6	Defektų klasterizacijos įtaka EIS charakteristikoms	16
6.1	Klasterizacijos modeliai	16
6.1.1	Traukos modelis.....	16
6.1.2	LCN modelis.....	17
6.2	Sintetiniai duomenys	19
6.3	Palyginimas su AFM duomenimis	21
7	Išvados	23
	Literatūros sąrašas	23

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 elektros 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.

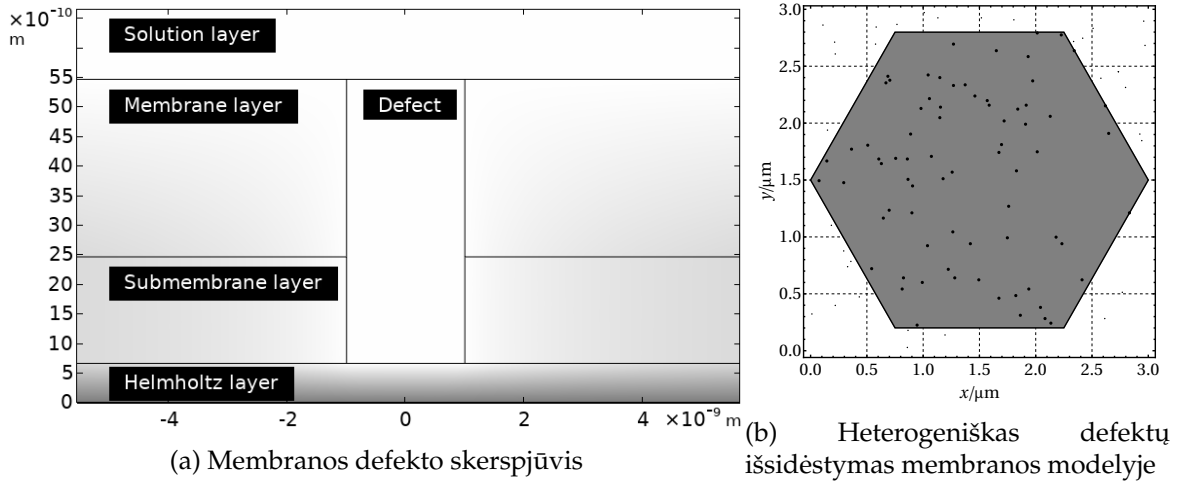
Elektrocheminio impedanso spektroskopija (EIS) yra vienas iš metodų, naudojamų įvertinti tBLM membranų dielektrines savybes. Naudojant šį metodą tiriama sistema yra veikiamą kintamąja elektros srove ir matuojamas jos atsakas pagal srovės dažnį. Tiriama EIS spektrinių charakteristikų ryšį su membranos struktūrinėmis savybėmis ankstesniuose darbuose membranų EIS spektrai buvo modeliuoti tiek analitiškai [VMI12], tiek naudojant baigtinių elementų metodą [KVL+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.).



1 pav.: tBLM membranos modelio pavyzdys

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 Φ 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 σ ir ε atitinkamai - elektrinis laidumas ir dielektrinė skvarba, j - menamasis vienetis, ω - kampinis dažnis, kur $\omega = 2\pi f$.

Laikoma, kad šešiakampės modelio prizmės viršuje yra fiksuotas 1V elektrinis potencialas, o po Helmholtzo sluoksniu 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

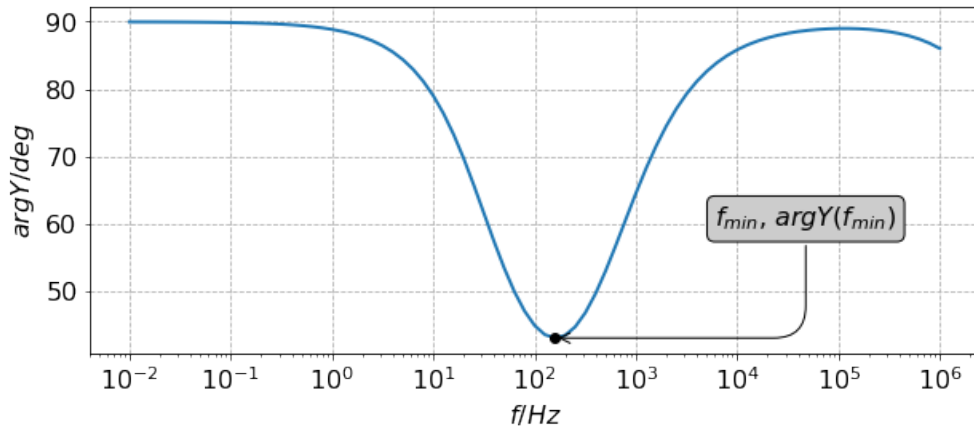
Aprašymas	Žymėjimas	Reikšmė	Vienetai
Helmholco sluoksnio storis	d_H	$6.6 \cdot 10^{-8}$	cm
Pomembraninio sluoksnio storis	d_{sub}	$1.8 \cdot 10^{-7}$	cm
Membranos storis	d_m	$3 \cdot 10^{-7}$	cm
Tirpalo sluoksnio storis	d_{sol}	$50 \cdot 10^{-7}$	cm
Modelio šešiakampės prizmės kraštinės ilgis	l_{hex}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

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 (2 pav.). 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)

Skaitiškai sprendžiant modelius sprendinių tikslumas vertinamas pagal vieną skaičių po kablelio f_{min} požymiui ir dviems skaičiams po kablelio $\arg Y(f_{min})$ požymiui.



2 pav.: Sumodeliuotas EIS spektras ir jo požymiai

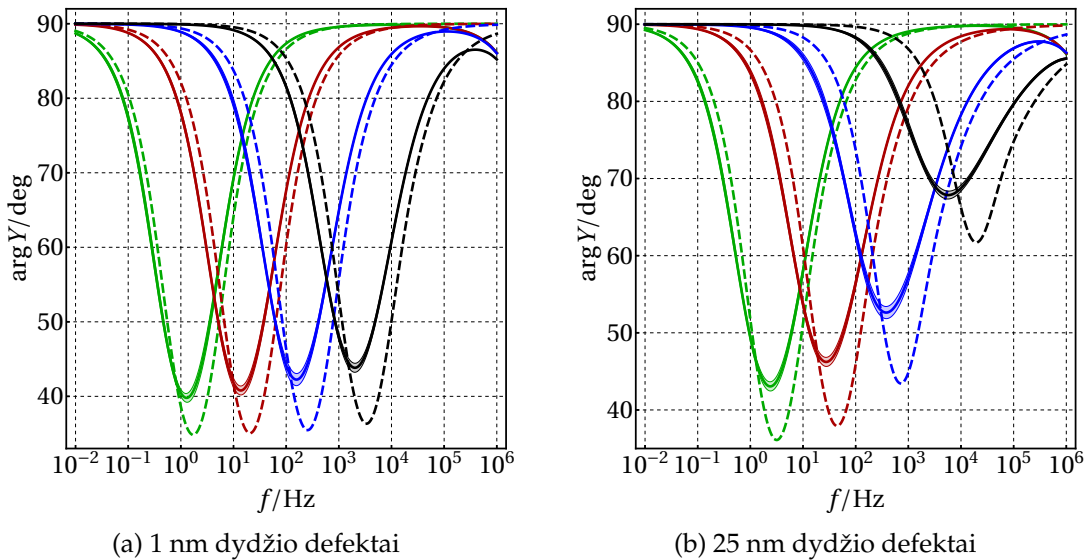
3.2 Modelio realizacija ir skaitinis sprendimas

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, 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.

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 išsibars-
tymams (esant vienodiems atstumams tarp defektų) [VMI12].



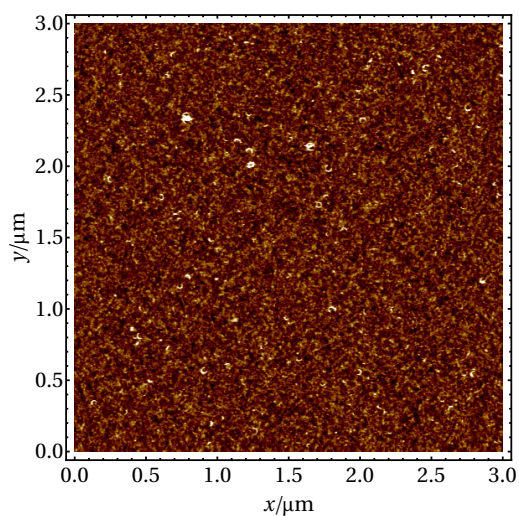
3 pav.: EIS spektrų priklausomybė nuo defektų tankio. Išsitiesinės kreivės žymi baigtinių elementų metodu sumodeliuotus spektrus heterogeniškiems defektų pasiskirstymams. Punktyrinės kreivės žymi analitinius sprendinius homogeniškiems defektų pasiskirstymams. Skirtingos spalvos atitinka skirtingą defektų 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.

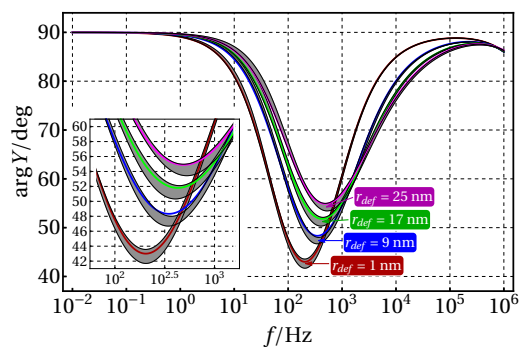
4.2 Eksperimentinis defektų išsidėstymas

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.). Nustaćius 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].

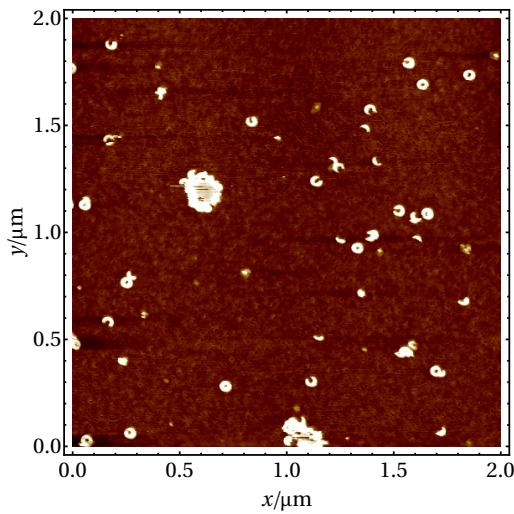


(a) Membranos AFM vaizdas

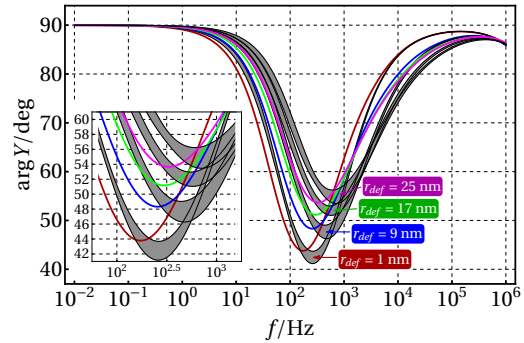


(b) EIS spektrai sumodeliuoti eksperimentiškai gautam (spalvotos kreivės) ir kompiuteriu sugeneruotiems (pilkos juostos) defektų išsidėstymams

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



(a) Membranos AFM vaizdas



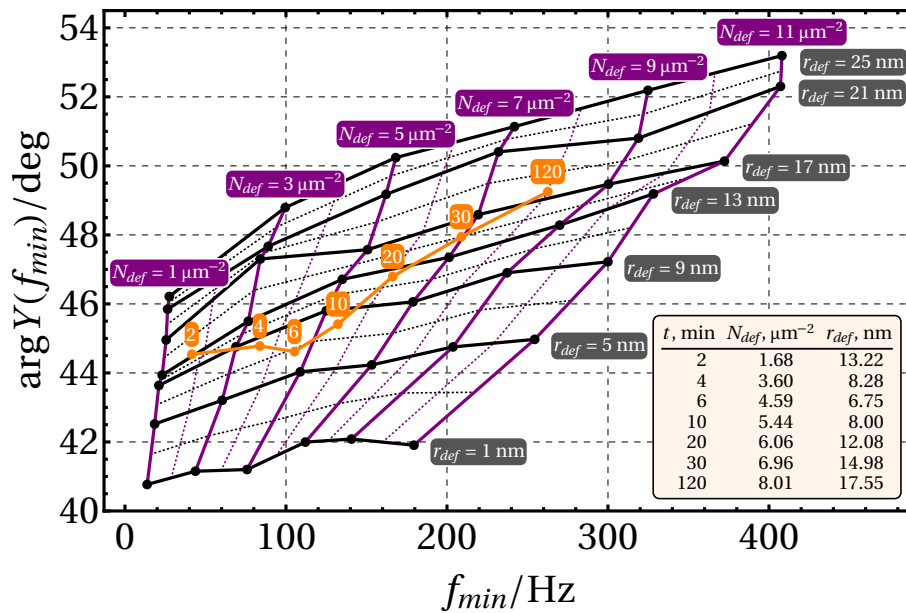
(b) EIS spektrai sumodeliuoti eksperimentiškai gautam (spalvotos kreivės) ir kompiuteriu sugeneruotiems (pilkos juostos) defektų išsidėstymams

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.). Atvaizdavo 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 modeliūtais EIS spektrais pagal heterogeniškus atsitiktinai sugeneruotus defektų pasiskirstymus (juodi taškai)

5 Modeliavimo proceso optimizavimas

Atliekant EIS spektrų modeliavimą dideliame kiekiui įvairių defektų pasiskirstymų tampa aktualūs skaičiavimų našumo klausimai. Taikant baigtinių elementų metodą svarbu rasti tinkamą balansą tarp sprendinio tikslumo ir naudojamo modelio srities diskretizavimo tinklelio tankio, kuris labiausiai nulemia skaičiavimų trukmę. Šiame skyriuje aprašomi eksperimentai, atlikti su skirtingų tipų tinkleliais, įvairiais jų tankiais, skirtingais lygčių sistemų sprendimo metodais bei skirtingomis skaičiavimų aplinkomis.

5.1 Tinklelio generavimas

Trimačių membranų modelių geometrijos diskretizavimui buvo naudojami dviejų tipų tinkleliai, sudaryti iš trikampių prizmių ir tetraedrų. Abiejų tipų tinkleliai buvo generuojami naudojant standartines COMSOL paketo funkcijas. Daroma prielaida, jog didžiausi srovės pokyčiai pasireiškia defektuose ir jų aplinkoje, todėl tinklelio tankumas defektų viduje ir kitose geometrijos dalyse reguliuojamas atskirai (2 lentelė), atitinkamai sutankinant jį defektų aplinkose. Prizmių ir tetraedrų tinkleliai generuojami keliais smulkumo lygiais, pagal sekančius parametrus:

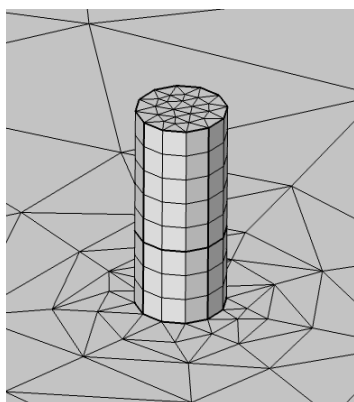
- k_d - defekto spindulio ir tinklelio elemento dydžio defekto viduje santykis
- k_h - šešiakampės modelio srities kraštinės ilgio ir maksimalaus tinklelio elemento dydžio defektų išorėje santykis

- k_s - tinklelio sluoksnių skaičius membranos ir pomembraniniame modelio sluoksniuose (tik prizmių tinkleliui)
- r_0 - defekto spindulys
- l_h - šešiakampės modelio srities kraštinės ilgis

Santykis k_d buvo keičiamas, tuo tarpu k_h reikšmė buvo fiksuota ir lygi 20. Visi defektai yra to paties spindulio $r_0 = 1$ nm. Šešiakampės modelio srities kraštinės ilgis l_h buvo fiksuotas ir išvedamas iš defektų skaičiaus ir defektų tankio, nustatomo defektų koordinatų generavimo metu. 3 lentelėje pateikta priklausomybė tarp tinklelio generavimo parametrų k_d and k_s ir modelio laisvės laipsnių (DoF) skaičiaus.

2 lentelė: COMSOL tinklelio generavimo parametrai.

Parametras	Reikšmė (defekto viduje)	Reikšmė (kitose srityse)
Maksimalus elemento dydis	r_0 / k_d	l_h / k_h
Minimalus elemento dydis	r_0 / k_d	l_h / k_h
Maksimalus elementų augimo santykis	1.7	1.7
Išlinkio faktorius	0.5	0.5
Siaurų sričių koeficientas	0.5	0.5



7 pav.: Prizmių tinklelio pavyzdys (4-as tankio lygis)

Nr.	k_d	Sluoksniai (prizmių)	DoF (prizmių)	DoF (tetraedrų)
1	0.5	2	3.15E+05	5.05E+05
2	1.0	4	6.46E+05	7.87E+05
3	1.5	6	1.04E+06	9.99E+05
4	2.0	8	1.38E+06	1.27E+06
5	2.5	10	2.03E+06	1.82E+06
6	3.0	12	1.78E+06	2.38E+06
7	3.5	14	3.95E+06	3.25E+06

3 lentelė: Modelio laisvės laipsnių skaičiaus (DoF) priklausomybė nuo tinklelio tipo ir k_d parametro, modelyje esant 100 atsitiktinai išsibarsčiusių defektų.

5.2 TLS sprendimo metodo parinkimas

Modeliai su skirtingais tinklelio tankiais buvo sprendžiami naudojant tiesioginį (angl. *direct*) ir iteracinį tiesinių lygčių sistemų sprendimo algoritmus, realizuotus COMSOL pakete. Pasirinktas MUMPS (*MUltifrontal Massively Parallel Sparse*) [ADKL01] tiesioginis ir GMRES (Generalized Minimal Residual Method) [SS86] iteracinis algoritmas.

Abu algoritmai buvo naudojami su numatytaisiais COMSOL nustatymais, išskyrus santykinės sprendinio artinio paklaidos parametą GMRES algoritmui, kuris eksperimentų eigoje buvo keičiamas. Abiejų algoritmų atveju skaičiavimai buvo lygiagretinami pagal dažnio parametą.

5.2.1 Tiesioginis algoritmas

Siekiant įvertinti tinklelio tankio įtaką sprendinio, išreikšto EIS spektriniais požymiais, tikslumui, eksperimentai buvo atliekami naudojant tikslų lygčių sistemų sprendimo algoritmą (angl. *direct solver*) bei skirtingų tankio lygių tinklelius (prizmių ir tetraedrų). Tinklelio elementų kokybė taip pat buvo vertinama elementų asimetriškumo koeficiento (angl. *skewness*) atžvilgiu. Visais atvejais buvo naudojama ta pati modelio geometrija su 100 atsitiktinai išsibarsčiusių defektų. Rezultatai parodė (4 lentelė), jog didinant tinklelio tankį virš 3-ojo lygio ($k_d = 1.5$), $argY(f_{min})$ požymis reikšmingai nebesikeičia, nors f_{min} ir toliau rodo mažėjimo tendenciją tetraedrų tinklelio atveju. Prizmių tinklelis pasižymi pranašumu prieš tetraedrų tinklelį minimalios elemento kokybės atžvilgiu - ši charakteristika visuose tankio lygiuose yra keliomis eilėmis didesnė.

4 lentelė: Sprendinio priklausomybė nuo tinklelio tankio, naudojant tiesioginį lygčių sistemų sprendimo algoritmą ir dviejų tipų elementų tinklelius

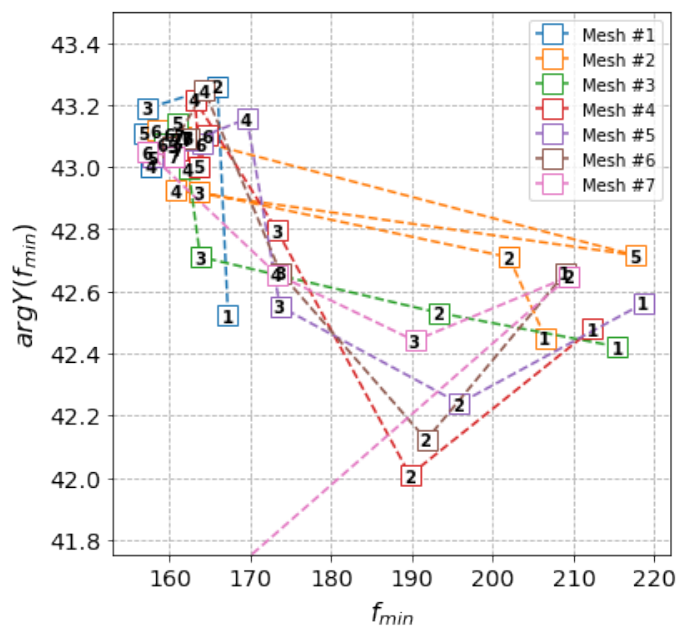
Tinklelio tankio lygis	Tetraedrų tinklelis			Prizmių tinklelis		
	f_{min}	$argY(f_{min})$	Min. kokybė	f_{min}	$argY(f_{min})$	Min. kokybė
1	160.22	43.071	1.1E-03	160.58	43.096	0.361
2	159.96	43.062	2.1E-03	160.12	43.076	0.341
3	159.95	43.060	1.5E-03	160.12	43.074	0.318
4	159.94	43.060	1.2E-03	160.12	43.074	0.318
5	159.91	43.061	8.2E-04	160.12	43.073	0.310
6	159.90	43.060	1.2E-04	160.44	43.088	0.058
7	159.90	43.060	8.3E-04	160.15	43.074	0.307

5.2.2 Iteracinis algoritmas

Iteracinis GMRES algoritmas buvo naudojamas su skirtingomis santykinėmis sprendinio artinio paklaidomis bei visais 7 tinklelio tankio lygiais. Paklaidos buvo parinktos logaritminėje skalėje nuo 10^{-3} iki 10^{-5} su 4 taškais dekadose bei nuo 10^{-6} iki 10^{-8} su 1 tašku dekadose. 5 lentelėje pateikiami iteracijų skaičiai bei sprendinių EIS požymiai pagal tinklelio tankį, kai naudojamas 3-ojo tankio lygio prizmių tinklelis (parinktas atsižvelgiant į ankstesnius rezultatus).

#	Santykinė paklaida	f_{min}	$argY(f_{min})$	Iteracijų kiekis
1	1.0E-03	215.44	42.421	133
2	5.6E-04	193.26	42.530	173
3	3.2E-04	163.81	42.710	201
4	1.8E-04	162.34	42.995	275
5	1.0E-04	160.97	43.141	336
6	5.6E-05	159.23	43.074	392
7	3.2E-05	161.07	43.055	467
8	1.8E-05	160.39	43.071	549
9	1.0E-05	160.89	43.077	634
10	1.0E-06	160.18	43.074	1046
11	1.0E-07	160.11	43.074	1545
12	1.0E-08	160.12	43.074	2109

5 lentelė: Sprendinio ir iteracijų kiekio priklausomybė nuo nustatytos santykinės paklaidos, esant fiksuotam prizmių tinklelio tankiui ($k_d = 1.5$) ir naudojant iteracinį algoritmą.



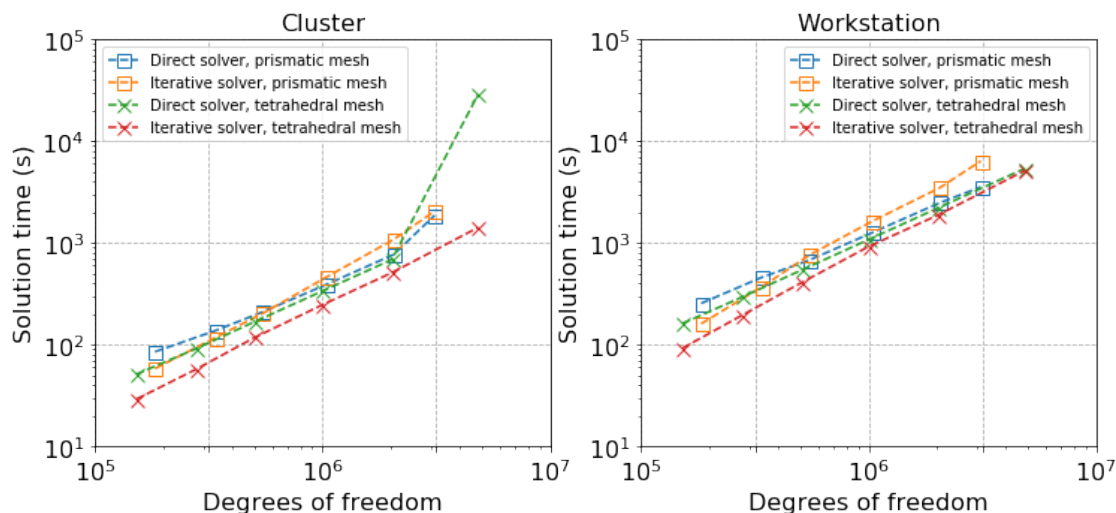
8 pav.: Sprendinio priklausomybė nuo tinklelio tankio ir santykinės paklaidos. Spalvos atitinka skirtingus tinklelio tankio lygius, numeriai kvadratuose atitinka santykinės paklaidos reikšmės eilės numerį (5 lentelė, iki 7-ojo)

Rezultatai (5 lentelė) rodo, jog naudojant 10^{-4} arba didesnę santykinę paklaidą gautami mažesnio tikslumo rezultatai, nei naudojant tiesioginį algoritmą. Vizualiai vertinant sprendinių reikšmes pagal tinklelio tankį taip pat matoma panaši tendencija, nepriklausanti nuo konkretaus tankio lygio. Kita vertus, mažinant paklaidos reikšmę žemiau

10^{-5} sparčiai auga iteracijų kiekis ir $argY(f_{min})$ požymis reikšmingai nebesikeičia, nors f_{min} atveju tai pasireiškia esant 10^{-6} ir mažesnei paklaidai.

5.3 Skaičiavimų trukmė

Siekiant įvertinti skaičiavimų trukmės priklausomybę nuo modelio apimties (defektų kiekio atžvilgiu), buvo sprendžiami keli skirtingi modeliai su įvairiais defektų kiekiais (10, 25, 50, 100, 200 ir 500). Naudoti abiejų tipų tinkleliai (prizmių ir tetraedru) bei abu nagrinėti lygčių sistemų sprendimo algoritmai (tiesioginis ir iteracinis). Visais atvejais naudotas 3-ojo tankio lygio tinklelis, iteracinio algoritmo atveju naudota 10^{-5} santykinės paklaidos reikšmė. Eksperimentai vykdyti dviejose aplinkose: asmeniniame kompiuteryje ir klasteryje. Asmeninio kompiuterio techninės savybės: Intel Core i5-8600K 3.60 GHz procesorius (6 branduoliai), 64 GB RAM, Ubuntu Linux 18.04 operacinė sistema. Vieno klasterio mazgo savybės: du Intel Xeon X5650 2.66 GHz procesoriai (po 6 branduolius), 24 GB of RAM, Debian GNU/Linux 9 operacinė sistema. Norint efektyviai panaudoti visus prieinamus procesorių branduolius, skaičiavimai buvo vykdomi paskirstytuoju režimu, naudojant vieną COMSOL egzempliorių (angl. *instance*) ir 6 procesus asmeninio kompiuterio aplinkoje bei 10 egzempliorių (po vieną kiekviename mazge) su 12 procesų viename mazge klasteryje.



9 pav.: Skaičiavimų trukmės priklausomybė nuo defektų skaičiaus, lygčių sistemų sprendimo algoritmo bei tinklelio tipo skirtingose skaičiavimų aplinkose

Rezultatai (9 pav.) rodo tiesinę priklausomybę logaritminėje skalėje tarp modelio laisvės laipsnių skaičiaus ir skaičiavimų trukmės. Ryškus trukmės šuolis klasterio aplinkoje (žalia kreivė) gali būti paašškintas MUMPS algoritmo persijungimu į išorinės atminties (angl. *out of core*) režimą, esant nepakankamam operatyviosios atminties kiekiui. Matoma tendencija, jog naudojant prizmių tinklelį skaičiavimai trunka ilgiau, nors šis efektas priklauso nuo konkretaus defektų skaičiaus modelyje. Iteracinis algoritmas

neparodo reikšmingo pranašumo laiko prasme prieš tiesioginį algoritmą, o kai kuriais didesnės apimties modelių atvejais pastebimas ir priešingas efektas. Bendru atveju klaseterio aplinkoje (naudojant 10 mazgų) skaičiavimai trunka maždaug 3 kartus trumpiau, lyginant su asmeninio kompiuterio rezultatais.

6 Defektų klasterizacijos įtaka EIS charakteristikoms

Ankstesniame tyrime lyginant sintetiškai sugeneruotų ir eksperimentiškai gautų defektų pasiskirstymų EIS požymius buvo nustatyta, jog defektų klasteriai sąlygoja reikšmingus neatitikimus tarp sumodeliuotų ir eksperimentiškai gautų EIS duomenų [RPJ⁺19]. Norint sudaryti praktiškai pritaikomą metodiką, leidžiančią iš eksperimentinių EIS duomenų prognozuoti membranos defektų pasiskirstymo savybes yra svarbu atsižvelgti į šį efektą. Šiame skyriuje apžvelgiami du teoriniai defektų klasterizacijos modeliai ir jų ryšys su eksperimentiškai AFM būdu užregistruotais defektų pasiskirstymais realiose membranose.

6.1 Klasterizacijos modeliai

6.1.1 Traukos modelis

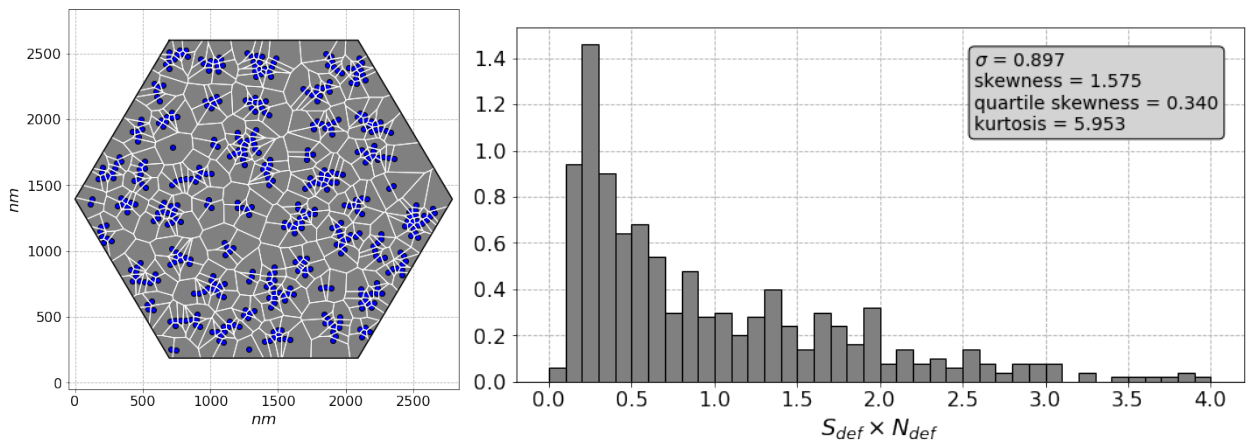
Naudojant šį modelį daroma prielaida, jog defektus veikia tarpusavio trauka ir dėl to membranoje susidaro jų klasteriai. Tokio pobūdžio sąveika yra dažnai stebima gamtoje (pvz. gravitacijos ar elektromagnetinė jėga), taip pat ji gali būti aktuali biologinių membranų modeliuose [MBTW12]. Trauka veikia, jei atstumas tarp dviejų defektų yra mažesnis nei nustatytas slenkstis d_{max} , kuris išreiškiamas dviem būdais:

- Defektų spindulių (traukiančio defekto) skaičius
- Fiksuotas atstumas nanometrais

Šis slenkstis naudojamas kaip traukos modelio parametras. Tokio defektų išsidėstymo generavimas atliekamas šiais žingsniais:

1. Pirmojo defekto koordinatės parenkamos atsitiktinai iš tolygiojo pasiskirstymo.
2. Kiekvienam sekančiam defektui:
 - (a) Pradinės naujo defekto su spinduliu r_c parenkamos atsitiktinai iš tolygiojo pasiskirstymo.
 - (b) Parenkamas arčiausiai esantis defektas (laikomas traukiančiuoju defektu) su spinduliu r_a .
 - (c) Randamas atstumas d tarp abiejų defektų centrų.
 - (d) Nustatomas minimalus atstumas tarp abiejų defektų $d_{min} = 1.5 * (r_c + r_a)$

- (e) Jei atstumas d yra mažesnis nei nustatytas slenkstis d_{max} ir didesnis nei minimalus atstumas d_{min} , einamasis defektas yra pastumiamas link traukiančiojo defekto, tarp jų centrų paliekant atstumą d_{min} .
- (f) Kitu atveju, jei atstumas d yra mažesnis už minimalų atstumą d_{min} , einamasis defektas yra pastumiamas nuo traukiančiojo defekto tiek, kad atstumas tarp jų būtų lygus d_{min} .
- (g) Jei einamojo defekto koordinatės atsiduria šešiakampės modelio srities išorėje, defektas atmetamas.



(a) Defektų centrų Voronojaus diagrama

(b) Voronojaus diagramos sektorių plotų histograma

10 pav.: Defektų išsidėstymas, sugeneruotas naudojant traukos modelį

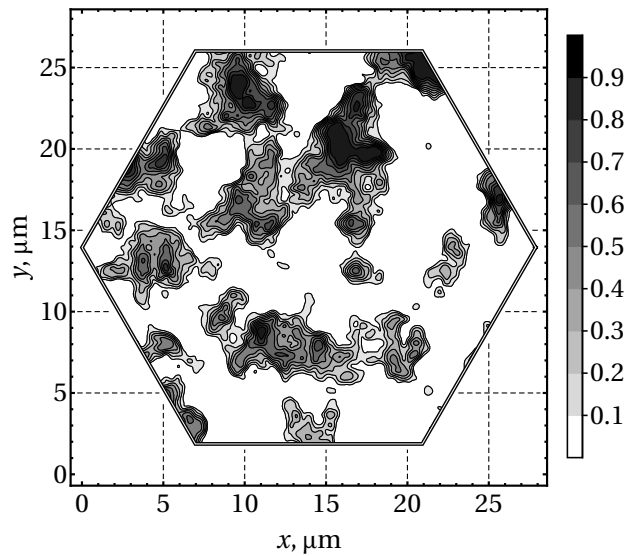
6.1.2 LCN modelis

Šiam modeliui naudojamas *lattice convolutional noise* (LCN) algoritmas [EMP⁺02], naudojamas procedūriniam debesų ar dūmų grafinių tekstūrų generavimui. Algoritmas turi du parametrus:

- Minimali tikimybė (atsirasti defektui): p
- Vidutinis santykinis klasterio dydis: S

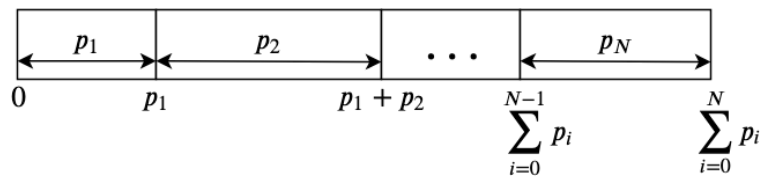
Defektų išsidėstymas generuojamas pagal sekančius žingsnius:

1. Naudojant LCN algoritmą šešiakampe modelio sričiai su tam tikra raiška (4096 x 4096) sugeneruojamas diskretus tikimybių laukas (11 pav.). Kiekvieno šio vaizdo taško reikšmė atitinka tikimybę tame taške atsirasti defektui.



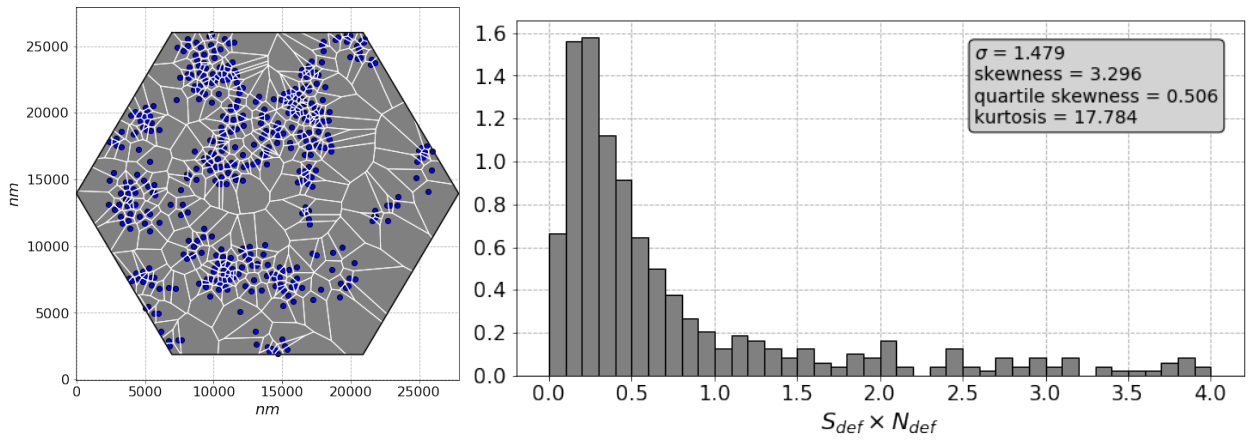
11 pav.: LCN algoritmu sugeneruoto tikimybių lauko pavyzdys

2. Skaičiuojama sugeneruoto lauko N taškų tikimybių suma S_N , intervalas $[0; S_N]$ padalinamas į N skirtingo dydžio intervalų, kurių kiekvienas atitinka vaizdo taškui priskirtą tikimybę p_i (12 pav).



12 pav.: Generuojamo defekto centro taško parinkimas svorinės ruletės principu

3. Kiekvienam defektui svorinės ruletės principu atsitiktinai parenkamas skaičius iš intervalo $[0; S_N]$ ir atitinkamai parenkamas vaizdo taškas į kurio intervalą p_i patenka šis skaičius. Defektui priskiriamos to vaizdo taško koordinatės.



(a) Defektų centrų Voronojaus diagrama

(b) Voronojaus diagramos sektorių plotų histograma

13 pav.: Defektų išsidėstymas, sugeneruotas naudojant LCN modelį

6.2 Sintetiniai duomenys

Siekiant statistiškai atskirti atsitiktinius ir klasterizuotus defektų išsidėstymus buvo sugeneruoti įvairūs atvejai su skirtingomis parametru kombinacijomis (6 lentelė). Taikant traukos bei LCN modelius buvo nagrinėjamos, atitinkamai, 54 ir 48 kombinacijos, kurioms buvo skaičiuojamos statistinės savybės iš 100 nepriklausomai sugeneruotų defektų išsidėstymų. Tokiu pačiu būdu apibendrinančios statistikos buvo skaičiuojamos ir atsitiktiniams defektų išsidėstymams (100 atskirai generuojamų atvejų). Kiekvienas sugeneruotas defektų išsidėstymas buvo sudarytas iš 500 defektų. Pastarųjų tankiai ir dydžiai buvo parinkti atsižvelgiant į realiomis sąlygomis tikėtinas reikšmes, plačiau nagrinėtas ankstesniame darbe [RPJ⁺19]. Kitų parametru reikšmės parinktos subjektyviai, siekiant gauti vizualiai įvairiai atrodančius defektų išsidėstymo variantus. Voronojaus sektorių plotai visais atvejais buvo normalizuojami pagal defektų tankį.

6 lentelė: Defektų klasterizacijos modelių parametru reikšmės naudotos sintetinių išsidėstymų generavime.

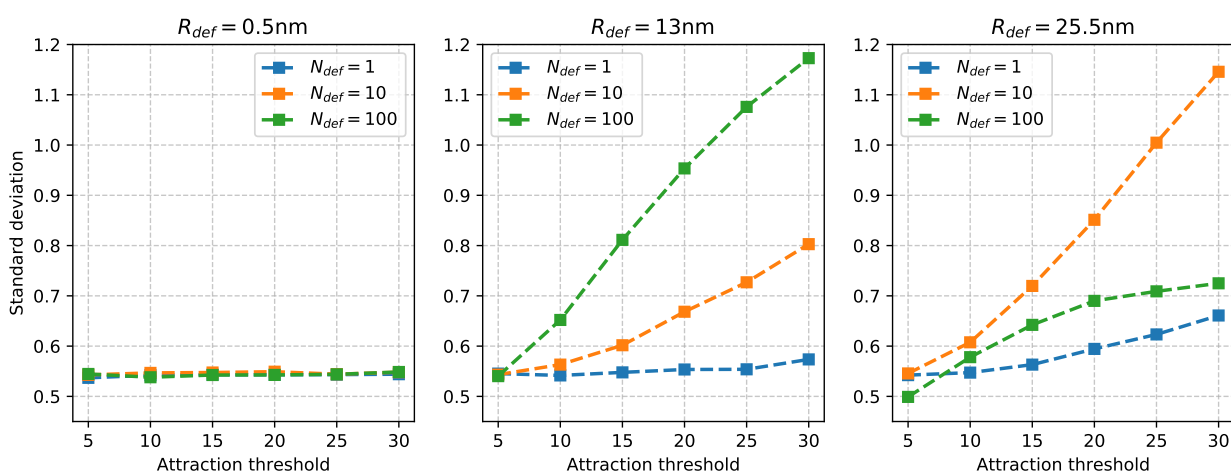
Modelio tipas	Modelio parametrai	Reikšmės
Traukos modelis	Defektų tankis N_{def}	1; 10; 100
	Defektų dydis R_{def} (nm)	0.5; 13; 25.5
	Traukos slenkstis ¹ d_T	5; 10; 15; 20; 25; 30
LCN modelis	Minimali tikimybė P	0; 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; 0.15
	Klasterio dydis S	0.25; 0.5; 0.75; 1; 1.25; 1.5; 1.75; 2

¹ Išreikšta defektų spindulių skaičiumi (R_{def}).

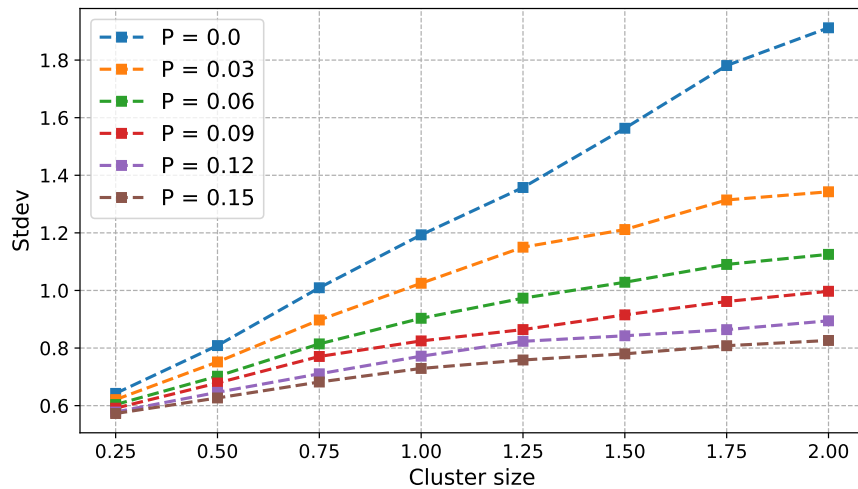
Klasterizuotų ir atsitiktinių defektų išsidėstymų lyginimui buvo naudojamas Voronojaus diagramų sektorių standartinis nuokrypis σ . 100 kartų generuojant atsitiktinį

defektų išsidėstymą ir kiekvienu atveju skaičiuojant klasterizacijos parametro σ reikšmę, iš visų atvejų gauta vidutinė reikšmė $\sigma = 0.54$. Traukos modelio rezultatai (14 pav.) rodo skirtingus σ pokyčius priklausomai nuo defektų dydžio (R_{def}) ir tankio (N_{def}) reikšmių. Mažų defektų (0.5 nm) atveju σ reikšmės visais atvejais lieka pastovios ir apytiksliai lygios 0.54, todėl pagal jas nėra įmanoma atskirti atsitiktinių bei traukos modelio išsidėstymų. Panaši savybė pastebima ir vidutinio dydžio (13 nm) bei mažo tankio ($N_{def} = 1$) atveju, nors defektų tankio didinimas sąlygoja aiškius σ pokyčius priklausančius nuo traukos slenksčio parametro reikšmių. Taip pat įdomus efektas gali būti stebimas didelių defektų (25.5 nm) atveju, kuomet didžiausias σ augimas pasireiškia esant vidutiniam defektų tankiui ($N_{def} = 10$).

15 pav. iliustruoja σ reikšmių priklausomybę nuo S ir P parametrų LCN modelio atveju. Mažinant abiejų parametrų reikšmes standartinis nuokrypis artėja prie ribinio $\sigma = 0.54$, tačiau šios reikšmės neperžengia. Nors galima stebėti aiškų σ augimą visais P atvejais, konkreti abiejų parametrų kombinacija negali būti vienareikmiškai nustatyta vien pagal Voronojaus sektorių plotų standartinį nuokrypį.



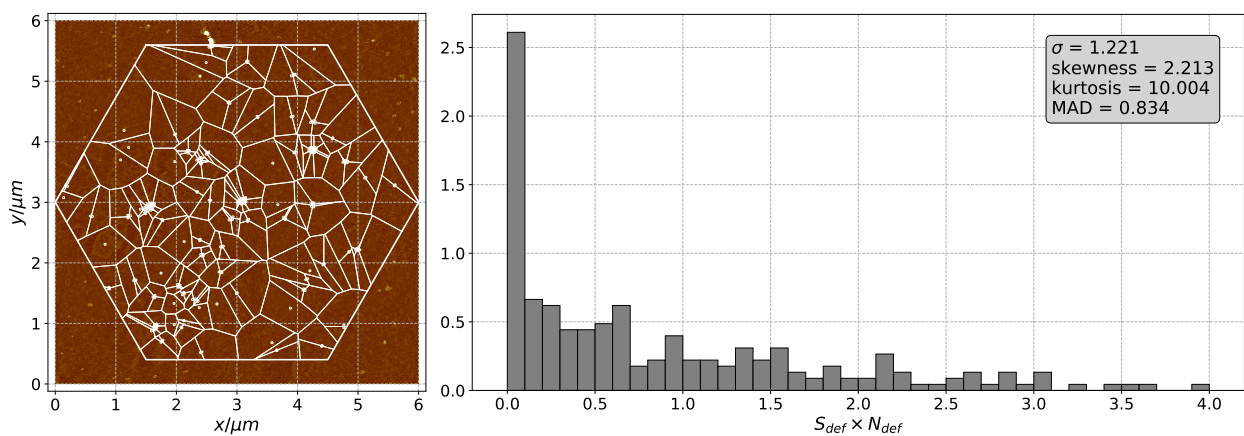
14 pav.: Sintetinių defektų išsidėstymų, sugeneruotų taikant traukos modelį, Voronojaus sektorių plotų standartinio nuokrypio reikšmės



15 pav.: Sintetinių defektų išsidėstymų, sugeneruotų taikant LCN modelį, Voronojaus sektorių plotų standartinio nuokrypio reikšmės

6.3 Palyginimas su AFM duomenimis

Naudojant AFM mikroskopijos metodą buvo ištirti trys realių membranų fragmentai su defektais (membranos paveiktos poras formuojančiu toksinu vaginolizinu - VLY) ir gauti jų skaitmeniniai vaizdai. Kiekvieno fragmento realus dydis buvo $6\mu m \times 6\mu m$, skaitmeninio vaizdo raiška - 1536×1536 . 16 pav. pateikiamas vienas iš šių vaizdų, kuriame pastebimi defektų klasteriai. Visuose vaizduose defektai buvo anotuoti rankiniu būdu (dalykinės srities eksperto), juos atitinkantiems taškams sudarytos Voronojaus diagramos, o pagal jų sektorių plotus suskaičiuotos keturios apibendrinančios statistikos (7 lentelė). Rezultatai rodo, kad eksperimentiškai užregistruoti defektų išsidėstymai nuo tipinio atsitiktinio išsidėstymo atvejo reikšmingai skiriasi standartinio nuokrypio ir absoliutaus nuokrypio medianos (MAD) atžvilgiu, bet ne pagal asimetrijos koeficientą (angl. skewness) ar ekscesą (angl. kurtosis).



16 pav.: Kairėje: AFM mikroskopu tirtos membranos defektų išsidėstymas ir jų Voronojaus diagrama. Dešinėje: Voronojaus diagramos sektorių plotų histograma ir apibendrinančios statistikos.

7 lentelė: Eksperimentiškai registruotų bei sintetiškai generuojamų atsitiktinių defektų išsidėstymų Voronojaus sektorių plotų statistinės savybės.

Vaizdo ID	N	N_{def}	Stdev	Skewness	Kurtosis	MAD
AFM #1	234	10.01	1.22	2.21	10.00	0.83
AFM #2	148	6.33	1.12	1.80	6.52	0.70
AFM #3	235	10.05	0.88	1.21	4.25	0.79
Atsitiktinis	-	-	0.54	1.18	5.38	0.49

Atsižvelgiant į sintetiškai sugeneruotų klasterizuotų defektų išsidėstymų (14 ir 15 pav.) bei tipinio atsitiktinio išsidėstymo savybes, visi trys AFM mikroskopu užregistruoti defektų išsidėstymai gali būti laikomi klasterizuotais (pagal σ metriką). Vis dėlto, nustatyti, kuris klasterizacijos modelis geriau atitinka realius duomenis (vertinant statistines metrikas), šiuo metu nėra įmanoma. Tiek traukos, tiek LCN modeliai leidžia sugeneruoti sintetinius klasterizuotus defektų išsidėstymus su σ reikšmėmis, atitinkančiomis realius atvejus. Tačiau traukos modelis priklauso nuo didesnio skaičiaus defektų išsidėtymą tiesiogiai apibūdinančių parametų (defektų dydis ir tankis) - jų reikšmės gali būti sudėtingiau įvertinti ar išmatuoti eksperimentiškai. Kaip pastebėta ankstesniame darbe [RPJ⁺19], defektų (atsiradusių membraną paveikus VLY toksinu) spinduliai dažniausiai siekia 13-25 nm. Šis faktas galėtų būti naudingas įvertinant traukos modelio parametų reikšmes pagal statistines Voronojaus sektorių metrikas. Kita vertus, LCN modelis nepriklauso nuo defektų dydžio ir tankio parametų, todėl gali būti laikomas universalesniu ir lengviau pritaikomu realiams duomenims.

7 Išvados

Aprašytų tyrimų metu buvo realizuotas trimatis tBLM membranos su defektais modelis ir baigtinių elementų metodu sumodeliuoti EIS spektrai esant įvairiems defektų pasiskirstymams membranoje. Remiantis ankstesnio tyrimo išvadamis, tiriama defektų klasterizacijos įtaka realių membranų EIS charakteristikoms. Du pasiūlyti defektų klasterizacijos modeliai įvertinti naudojant realius AFM metodu užregistruotus defektų pasiskirstymus ir vienas iš jų (LCN modelis) pasirinktas tolimesniems tyrimams. Taip pat nagrinėti praktiniai FEM modeliavimo klausimai susiję su skaičiavimų našumu. Apžvelgtiems membranų modeliams parinkti modeliavimo parametrai, užtikrinantys optimalų santykį tarp sprendinio, išreikšto EIS spektriniais požymiais, tikslumo ir skaičiavimų trukmės.

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.
- [EMP⁺02] David Ebert, F.K. Musgrave, D. Peachey, Ken Perlin, Steve Worley, W.R. Mark, and John Hart. *Texturing and Modeling: A Procedural Approach: Third Edition*. 12 2002.
- [HB12] William H. Hayt and John A. Buck. *Engineering Electromagnetics, 8th ed.* McGraw-Hill, 2012.
- [KVL⁺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.
- [MBTW12] Andrew Mugler, Aimee Bailey, Koichi Takahashi, and Pieter Wolde. Membrane clustering and the role of rebinding in biochemical signaling. *Biophysical journal*, 102:1069–78, 03 2012.
- [RPJ⁺19] Tomas Raila, Tadas Penkauskas, Marija Jankunec, Gintaras Dreičas, Tadas Meškauskas, and Gintaras Valinčius. Electrochemical impedance of randomly distributed defects in tethered phospholipid bilayers: Finite element analysis. *Electrochimica Acta*, 299:863 – 874, 2019.
- [SS86] Youcef Saad and Martin H Schultz. Gmres: A generalized minimal residual algorithm for solving nonsymmetric linear systems. *SIAM Journal on scientific and statistical computing*, 7(3):856–869, 1986.

- [TOG⁺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⁺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.