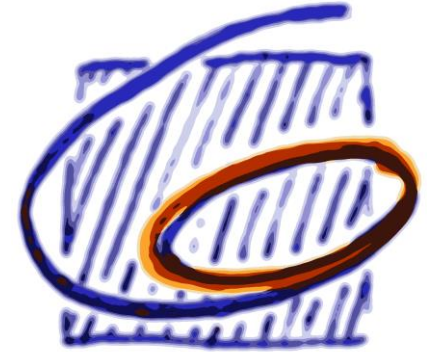


COPASI

Complex Pathway Simulator

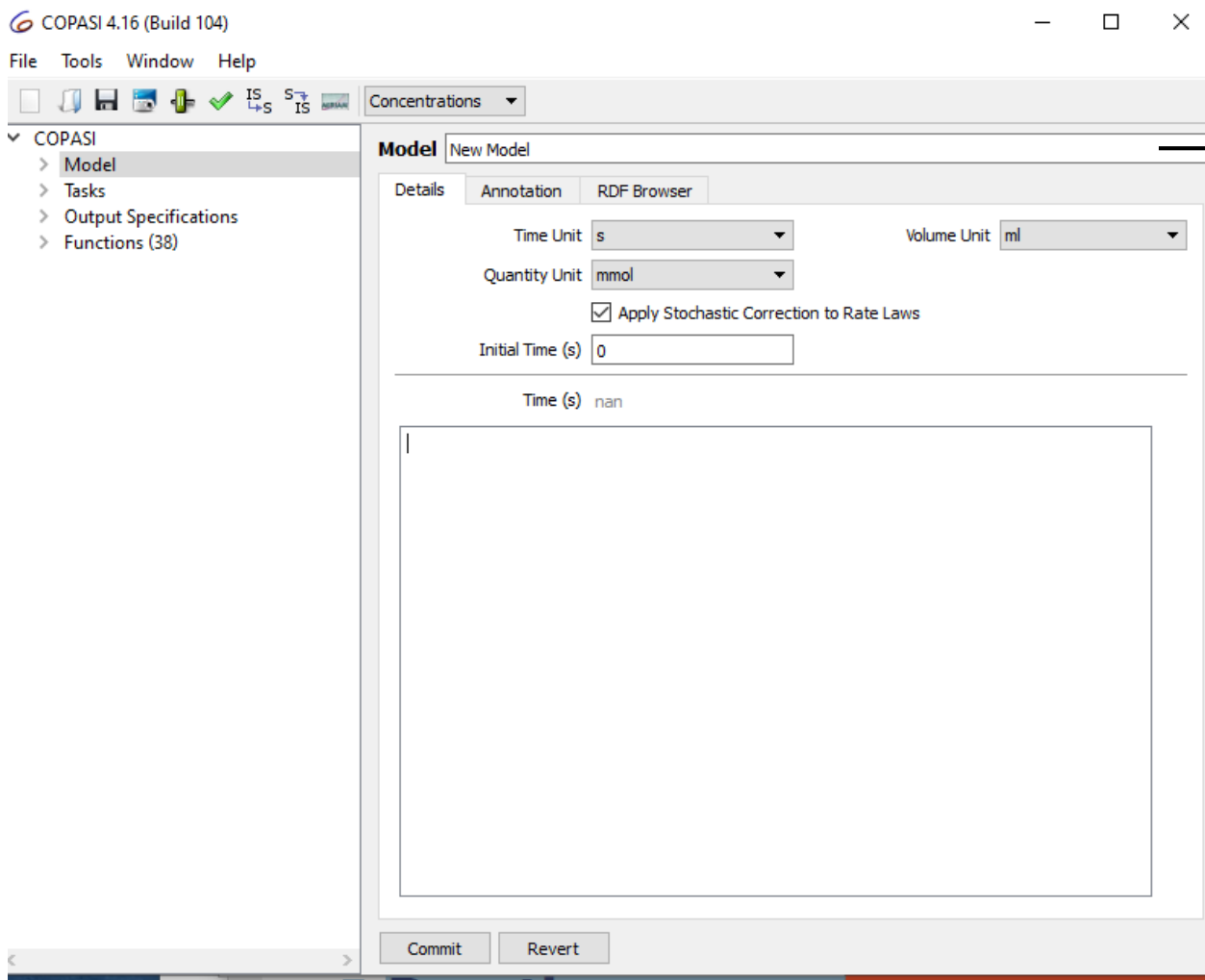


The model

The basics, classical biochemical model:

- The **compartments** have a **volume** and contain metabolites
- The **species** have a **concentration**
- **Reactions** consume and produce species and have a reaction **rate** (arbitrary kinetic functions)

Création d'un nouveau modèle



Donner un nom

Changer les unités :

Time en minute

Quantité en mol

Volume en litre

Décocher Apply stochastic ..

Enregistre les modifications

Création d'un nouveau modèle

Aller dans Model puis Biochemical

- Compartiment : créer au moins un compartiment appelé cell (ne rien changer d'autre)
- Reactions :
 - Donner un nom à la réaction (ex synth_basal_LaCl)
 - Décrire la réaction chimique
 - ✓ $X \rightarrow Y$: réaction irréversible; $X = Y$: réaction réversible
 - ✓ Séparer tous les substrats et produits par + en faisant attention de mettre des espaces avant et après le +, sinon pris comme faisant partie du nom du substrat.
 - ✓ Si la réaction implique des « modifieurs » comme activateur, inhibiteur, à la fin de la réaction utiliser ; suivi de la liste de « modifieurs » ex : $A + B \rightarrow C ; D$
 - ✓ La liste des substrats ou des produits peut être vide mais au moins une des deux doit être présente.

Exemples de réactions

1	Pre_CSP_synt	-> Pre_CSP; ComE ComE_P
2	ComD_synt	-> ComD; ComE ComE_P
3	ComE_synt	-> ComE; ComE ComE_P
4	Pre_CSP_dec	Pre_CSP ->
5	ComD_dec	ComD ->
6	ComE_dec	ComE ->
7	CSP_exp	Pre_CSP -> CSP; ComAB
8	CSP_dec	CSP ->
9	ComD_ass	2 * ComD -> ComD_dim
10	ComD_diss	ComD_dim -> 2 * ComD
11	ComD_auto_act	ComD_dim -> ComD_act
12	ComD_pho	CSP + ComD_dim -> ComD_act
13	transpho	ComD_act + 2 * ComE -> ComD_used + ComE_P

Création d'un nouveau modèle

- Species : les espèces sont créées automatiquement quand on rentre les réactions. On peut cependant les modifier si besoin.
- Création des rates laws (réactions biochimiques). Si la réaction n'est pas dans la liste des fonctions (Fonctions) il faut la créer

Function

Details | Notes | Annotation | RDF Browser

Formula

$$\frac{\text{beta_ComCDE} + \text{vmax_ComCDE} * \text{ComE_P}}{(\text{ComE_P} + \text{k_ComCDE_EP} * (1 + \text{ComE}^e / \text{k_ComCDE_E}^e))} / \text{cell}$$

Function Type reversible irreversible general

Parameters	Name	Description	Unit
------------	------	-------------	------

Application Restrictions None

Donner un nom :
Function for Pre_CSP_synt

Ecrire la formule de l'équation (si la formule est bonne, le fond devient mauve)

Création d'un nouveau modèle

Formula

$$\text{beta_ComCDE} + \frac{\text{vmax_ComCDE} \cdot \text{ComE_P}}{\text{ComE_P} + k_{\text{ComCDE_EP}} \cdot \left(1 + \frac{\text{ComE}^e}{k_{\text{ComCDE_E}}^e} \right)}$$

cell

Function Type reversible irreversible general

Parameters

Name	Description	Unit
ComE	Modifier	mol/l
ComE_P	Modifier	mol/l or mol/l
beta_ComCDE	Parameter	mol/min or ?
cell	Volume	l or ?
e	Parameter	1
k_ComCDE_E	Parameter	?
k_ComCDE_EP	Parameter	mol/l

Application Restrictions Only irreversible reactions, No substrate

Possibilité de visionner la formule sous forme mathématique

Création de la fenêtre paramètre : Choisir la nature du paramètre

Commit pour enregistrer

Cliquer sur la réaction et associer la nouvelle « rate law » créée à la réaction

Création d'un nouveau modèle



- Création des paramètres : Aller dans Global Quantities
 - ✓ Créer chacun des paramètres
 - ✓ Pour chaque réaction faire le lien entre le nom des variables de la « rate law » et le nom des variables du modèle

Reaction Pre_CSP_synt

Details Notes Annotation RDF Browser






Reaction

Reversible Multi Compartment


Rate Law   Add Noise

Rate Law Unit Default mol/min mol/(min*l)

Symbol Definition

	Role	Name	Mapping	Value	Unit
	Modifier	 ComE	ComE		mol/l
	Modifier	 ComE_P	ComE_P		mol/l
	Parameter	beta_ComCDE	beta_ComCDE	0.1	mol/min
	Volume	cell	cell		l
	Parameter	e	e	2	1
	Parameter	k_ComCDE_E	k_ComCDE_E	1	?
	Parameter	k_ComCDE_EP	k_ComCDE_EP	1	 mol/l
	Parameter	vmax_ComCDE	vmax_ComCDE	1	mol/min

Nom dans la rate law Nom dans le modèle



Création d'un nouveau modèle

- Création d'un évènement (event) : exemple ajouter du CSP dans le système après un temps de 58.2

Event CSP_add

Details | Notes | Annotation | RDF Browser

Trigger Expression `{Time} eq 58.2`

Fire at initial Time if Trigger true Trigger must remain true

Priority

Delay None

Target CSP

Expression `[[CSP]] +1`

Sélectionner le modèle Time puis écrire l'équation

Choisir la cible ici Species puis CSP

Ecrire l'expression de l'évènement

Estimation des paramètres

Parameter Estimation

update model executable

Randomize Start Values Create Parameter Sets Calculate Statistics

Experimental Data Validation Data

Parameters (0) Constraints (0)

Object	Lower Bound	Upper Bound	Start Value	Affected Experiments	Affected Validations
	<input type="checkbox"/> - Infinity	1e-06		<input checked="" type="checkbox"/> all	<input checked="" type="checkbox"/> all
	<input type="checkbox"/> + Infinity	1e+06			

Duplicate for each Experiment

Method: Evolutionary Programming

Parameter	Value
Number of Generations	200
Population Size	20
Random Number Generator	1

Ajout des fichiers de résultats expérimentaux

Icône + puis ensuite icône Copasi pour choisir le nom du paramètre

Changer les bornes inférieure et supérieure en fonction des connaissances

Choisir une valeur initiale en choisissant **random**

Choisir la méthode d'estimation des paramètres et éventuellement modifier les valeurs des paramètres par défaut.

Estimation des paramètres

Randomize Start Values Create Parameter Sets Calculate Statistics

Parameters (56) Constraints (0)

4	$1 \leq \text{Values}[\text{vmax_ComAB}].\text{InitialValue} \leq 2$; Start Value = 1.999999954
5	$7 \leq \text{Values}[\text{vmax_ComCDE}].\text{InitialValue} \leq 9$; Start Value = 8.137427668
6	$1\text{e-}04 \leq \text{Values}[\text{vmax_ComW}].\text{InitialValue} \leq 10000$; Start Value = 309.6280911
7	$1\text{e-}04 \leq \text{Values}[\text{vmax_ComX}].\text{InitialValue} \leq 10000$; Start Value = 268.8814254
8	$0 \leq \text{Values}[\text{vmax_DprA}].\text{InitialValue}$; {dprA last} ≤ 0 ; Start Value = 0
9	$1\text{e-}04 \leq \text{Values}[\text{vmax_DprA}].\text{InitialValue}$; {WT last, clp Last} ≤ 10000 ; Start Value = 2106.13
10	$1\text{e-}04 \leq \text{Values}[\text{vmax_SsbB}].\text{InitialValue} \leq 10000$; Start Value = 2835.196238

Object: Values[vmax_DprA].InitialValue

Lower Bound -Infinity: 1e-04

Upper Bound +Infinity: 10000

Start Value: 2106.13

Affected Experiments: all, WT last

Affected Validations: all

Duplicate for each Experiment

On peut ici modéliser des mutants : exemple mutant *dprA* :

Résultats expérimentaux WT (WT last) et mutant *clp* (clp last), DprA est synthétisé donc valeur de *vmax_DprA* n'est pas nulle et est estimée

Résultats expérimentaux mutant *dprA* (dprA last) *vmax-DprA* est à 0. Pas de synthèse

Ajout des fichiers résultats expérimentaux

Experimental Data

File: WT_dataset_new.csv Experiment WT

Experiment: Experiment WT First Row: 1 Last Row: 64

Header: 1 Separator: , <tab>

Copy Settings: from previous to next

Experiment Type: Steady State Time Course

Weight Method: Mean Square Normalize W

	Column Name	Type	Model Object	Weight
1	time	Time		
2	comd	dependent		(nan)
3	come	ignored		
4	comx	ignored		
5	ssbb	ignored		

Select Item

Sort

- > Compartments
- > Global Quantities
- > Reactions
- ▼ Species
 - > Rates (Concentrations)
 - > Rates (Particle Numbers)
 - ▼ Transient Concentrations
 - [ComAB](t)
 - [ComD](t)
 - [ComD_act](t)

OK Cancel expert mode

OK Revert Cancel

- Charger le fichier en utilisant l'icône +
- Donner un nom à l'expérience (experiment)
- Si le séparateur n'est pas la tabulation, décocher
- Choisir Time course
- Pour chaque variable choisir dependent
- Dans la fenêtre Select Item, choisir Species puis Transient Concentrations

Estimation des paramètres

The screenshot shows the COPASI 4.24 (Build 197) interface. The main window displays the 'Parameter Estimation' task, with a list of 56 parameters. The 'Output Assistant' dialog is open, showing the 'Plots' section. The 'Plots of Parameter Estimation Results per Experiment' option is selected. The 'Title' field contains 'Plots of Parameter Estimation Results per Experiment'. The description text reads: 'For each experiment of the parameter estimation a plot is created. Each plot contains the experimental data, the fitted curve, and the weighted error for each dependent value.' The 'Create' button is highlighted.

Method: Partide Swarm

Name	Value
Iteration Limit	2000
Swarm Size	50
Std. Deviation	1e-6

Pour créer les fichiers de sortie qui contiendront les plots des valeurs simulées et expérimentales, choisir en utilisant Output Assistant **Plots of Parameter Estimation Results per Experiment** (d'où l'intérêt de donner un nom à l'expérience lors du chargement du fichier).

Il faut aussi créer un « **Report File** ». Si les résultats sont OK, sauvegarder. Par la suite pour réobtenir les mêmes plots, il faudra choisir « **Current Solution Statistics** »

Utilisation de R pour la simulation

- Charger la librairie *deSolve*
- Déclaration des variables avec leur concentrations initiales

```
state <- c(
  CSP          = 0.000999098177,
  ComAB        = 0.0001136000003,
  preCSP       = 0.9999999998,
  ComD         = 0.02747888943,
  ...,
  ComD_dim     = 0.01402570547
)
```

- Déclaration des paramètres et de leurs valeurs

```
parameters_dprA <- c(
  betaCDE      = 9.999997904e-06,
  betaComAB    = 1.004322428e-07,
  ...,
  alpha_auto   = 1e-06
)
```

- Ecrire les équations différentielles ordinaires

```
comp <-function(t, state, parameters) {
  with(as.list(c(state, parameters)),{
    dCSP= -2*(vmax_act*CSP/(CSP+k_act)*ComD_dim) +epsilon*ComAB*preCSP -
degCSP*CSP
    dComAB=betaComAB+vmaxComAB*ComEP/(ComEP+kComAB_EP*(1+(ComE^e/kComAB_E^
e))) -ComAB*degComAB
  })
}
```

Utilisation de R pour la simulation

- Déclarer le temps de simulation

```
times <- seq(0,55)
```

- Réaliser la simulation

```
out_dprA <- ode(y = state, times = times, func = comp, parms =  
parameters_dprA, method = "lsoda")
```

- Plotter les résultats sauvegarder dans out_dprA en fonction du temps

- Charger le fichier des valeurs expérimentales et plotter ces valeurs sur le même plot que les valeurs simulées.

