

# Early gene regulation of osteogenesis in embryonic stem cells

Simon Johanning

Institut für Mathematik und Informatik der Universität Leipzig

January 20, 2016

# Hintergrund

---

# Wissenschaftlicher Hintergrund

---

- Signal pathways und Veränderung der Genexpression von Stammzellendifferentiation von Mäusen (mES) nicht gut charakterisiert

# Wissenschaftlicher Hintergrund

---

- Signal pathways und Veränderung der Genexpression von Stammzellendifferentiation von Mäusen (mES) nicht gut charakterisiert
- Differenzierung in pluripotente Zellen in Knochengewebe essentiell für therapeutische Anwendungen (insbesondere tissue engineering)

# Wissenschaftlicher Hintergrund

---

- Signal pathways und Veränderung der Genexpression von Stammzellendifferentiation von Mäusen (mES) nicht gut charakterisiert
- Differenzierung in pluripotente Zellen in Knochengewebe essentiell für therapeutische Anwendungen (insbesondere tissue engineering)
- Genregulatorische Netzwerke nicht klar

## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten

## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten  
Wichtig für (down-stream) Expression vieler osteogenetischer Gene

## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten  
Wichtig für (down-stream) Expression vieler osteogenetischer Gene
- Bekannt, dass von Wachstumsfaktoren BMP2 und TGF $\beta$ 1 reguliert



## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten  
Wichtig für (down-stream) Expression vieler osteogenetischer Gene
- Bekannt, dass von Wachstumsfaktoren BMP2 und TGF $\beta$ 1 reguliert
- Ebenso von Genen Dlx5 und Msx2, welche beide von BMP2 und TGF $\beta$ 1 beeinflusst werden

## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten  
Wichtig für (down-stream) Expression vieler osteogenetischer Gene
- Bekannt, dass von Wachstumsfaktoren BMP2 und TGF $\beta$ 1 reguliert
- Ebenso von Genen Dlx5 und Msx2, welche beide von BMP2 und TGF $\beta$ 1 beeinflusst werden
- Dlx5 von BMP2 allein stimuliert

## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten  
Wichtig für (down-stream) Expression vieler osteogenetischer Gene
- Bekannt, dass von Wachstumsfaktoren BMP2 und TGF $\beta$ 1 reguliert
- Ebenso von Genen Dlx5 und Msx2, welche beide von BMP2 und TGF $\beta$ 1 beeinflusst werden
- Dlx5 von BMP2 allein stimuliert
- Msx2 wird oft als negativer Regulator von Runx2 gesehen

## Biologischer Hintergrund: Gene / TFs

---

- Runx2 wesentliches regulatorisches Gen in Osteoblasten  
Wichtig für (down-stream) Expression vieler osteogenetischer Gene
- Bekannt, dass von Wachstumsfaktoren BMP2 und TGF $\beta$ 1 reguliert
- Ebenso von Genen Dlx5 und Msx2, welche beide von BMP2 und TGF $\beta$ 1 beeinflusst werden
- Dlx5 von BMP2 allein stimuliert
- Msx2 wird oft als negativer Regulator von Runx2 gesehen  
Aber: Rolle nicht klar; Manche Studien: Msx2 supprimiert, manche kein Effekt, manche pro-osteogenetisch unabhängig von Runx2

## Biologischer Hintergrund: Wachstumsfaktoren

---

- Wichtige Wachstumsfaktoren O.: BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) und TGF $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*)

## Biologischer Hintergrund: Wachstumsfaktoren

---

- Wichtige Wachstumsfaktoren O.: BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) und TGF $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*)
- BMP2: positiver Regulator in Osteogenese

## Biologischer Hintergrund: Wachstumsfaktoren

---

- Wichtige Wachstumsfaktoren O.: BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) und TGF $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*)
- BMP2: positiver Regulator in Osteogenese
- TGF $\beta$ 1: negativer Regulator in O.; hohe Konzentration in Knochen und Knorpelgewebe

## Biologischer Hintergrund: Wachstumsfaktoren

---

- Wichtige Wachstumsfaktoren O.: BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) und TGF $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*)
- BMP2: positiver Regulator in Osteogenese
- TGF $\beta$ 1: negativer Regulator in O.; hohe Konzentration in Knochen und Knorpelgewebe
- Aber: Manche Studien sehen TGF $\beta$ 1 als pro-osteogenisch, (manche als kontra-osteogenisch)



## Biologischer Hintergrund: Wachstumsfaktoren

---

- Wichtige Wachstumsfaktoren O.: BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) und TGF $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*)
- BMP2: positiver Regulator in Osteogenese
- TGF $\beta$ 1: negativer Regulator in O.; hohe Konzentration in Knochen und Knorpelgewebe
- Aber: Manche Studien sehen TGF $\beta$ 1 als pro-osteogenisch, (manche als kontra-osteogenisch)
- osteog. Rolle von TGF $\beta$ 1 hängt von Zelltyp und Umgebung ab

## Biologischer Hintergrund: Wachstumsfaktoren

---

- Wichtige Wachstumsfaktoren O.: BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) und TGF $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*)
- BMP2: positiver Regulator in Osteogenese
- TGF $\beta$ 1: negativer Regulator in O.; hohe Konzentration in Knochen und Knorpelgewebe
- Aber: Manche Studien sehen TGF $\beta$ 1 als pro-osteogenisch, (manche als kontra-osteogenisch)
- osteog. Rolle von TGF $\beta$ 1 hängt von Zelltyp und Umgebung ab
- wenige *in vitro*-Studien, die TGF $\beta$ 1 und BMP2 untersuchen

## Biologischer Hintergrund: Motivation

---

- Signal- und Regulationsnetzwerke, die Interaktion zwischen BMP2 und TGF $\beta$ 1 regeln, sind nicht bekannt

## Biologischer Hintergrund: Motivation

---

- Signal- und Regulationsnetzwerke, die Interaktion zwischen BMP2 und TGF $\beta$ 1 regeln, sind nicht bekannt
- Kandidaten für GRN: Dlx5 und Msx2, da diese um Runx2-Promoter konkurrieren

## Biologischer Hintergrund: Motivation

---

- Signal- und Regulationsnetzwerke, die Interaktion zwischen BMP2 und  $TGF\beta 1$  regeln, sind nicht bekannt
- Kandidaten für GRN: Dlx5 und Msx2, da diese um Runx2-Promoter konkurrieren
  - Motivation für Netzwerke, die BMP2,  $TGF\beta 1$ , Dlx5, Msx2 und Runx2 beinhalten

# Mathematischer Hintergrund: Boolsche Modelle

---

- Rigorose Repräsentation qualitativen biologischen Wissens

# Mathematischer Hintergrund: Boolsche Modelle

---

- Rigorose Repräsentation qualitativen biologischen Wissens
- Komponenten (*Spezies*) haben diskrete Zustände; oftmals binär:  
*An/Aus*

# Mathematischer Hintergrund: Boolsche Modelle

---

- Rigorose Repräsentation qualitativen biologischen Wissens
- Komponenten (*Spezies*) haben diskrete Zustände; oftmals binär:  
*An/Aus*
- Repräsentation als Graphen: Gene/Faktoren als Knoten, Interaktionen als Kanten (aktivierend/inhibierend)



# Mathematischer Hintergrund: Boolsche Modelle

---

- Rigorose Repräsentation qualitativen biologischen Wissens
- Komponenten (*Spezies*) haben diskrete Zustände; oftmals binär: *An/Aus*
- Repräsentation als Graphen: Gene/Faktoren als Knoten, Interaktionen als Kanten (aktivierend/inhibierend)
- Diskrete Zeit:  $\text{Zustand}(t+1)$  hängt von  $\text{Zuständen}(t)$  ab

# Mathematischer Hintergrund: Boolsche Modelle

---

- Rigorose Repräsentation qualitativen biologischen Wissens
- Komponenten (*Spezies*) haben diskrete Zustände; oftmals binär: *An/Aus*
- Repräsentation als Graphen: Gene/Faktoren als Knoten, Interaktionen als Kanten (aktivierend/inhibierend)
- Diskrete Zeit: Zustand( $t+1$ ) hängt von Zuständen( $t$ ) ab
- stabile steady-states: Zellphänotypen, die mit experimentellen Daten verglichen werden können

# Mathematischer Hintergrund: Boolsche Modelle

---

- Rigorose Repräsentation qualitativen biologischen Wissens
- Komponenten (*Spezies*) haben diskrete Zustände; oftmals binär: *An/Aus*
- Repräsentation als Graphen: Gene/Faktoren als Knoten, Interaktionen als Kanten (aktivierend/inhibierend)
- Diskrete Zeit: Zustand( $t+1$ ) hängt von Zuständen( $t$ ) ab
- stabile steady-states: Zellphänotypen, die mit experimentellen Daten verglichen werden können
- Auch wenn grob, können BM das qualitative Verhalten biologischer Systeme recht gut reproduzieren

## Boolsche Modelle: Beschränkungen

---

- Können weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen abbilden

## Boolsche Modelle: Beschränkungen

---

- Können weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen abbilden  
⇒ Können quantitative (biologische) Experimente weder erklären noch vorhersagen

## Boolsche Modelle: Beschränkungen

---

- Können weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen abbilden  
⇒ Können quantitative (biologische) Experimente weder erklären noch vorhersagen (zunehmend wichtig in systems biology)

## Boolsche Modelle: Beschränkungen

---

- Können weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen abbilden
  - ⇒ Können quantitative (biologische) Experimente weder erklären noch vorhersagen (zunehmend wichtig in systems biology)
  - Übergang zu Differentialgleichungssystemen: HillCube Methode / odefy

# Forschungsansatz

---



## Setup Studie (grob)

---

- Messung Genexpression von Runx2, Dlx5 und Msx2 unter Zugabe von TFs BMP2, TGF $\beta$ 1 und Kombination

## Setup Studie (grob)

---

- Messung Genexpression von Runx2, Dlx5 und Msx2 unter Zugabe von TFs BMP2, TGF $\beta$ 1 und Kombination
- Konstruktion Boolescher Modelle

## Setup Studie (grob)

---

- Messung Genexpression von Runx2, Dlx5 und Msx2 unter Zugabe von TFs BMP2, TGF $\beta$ 1 und Kombination
- Konstruktion Boolescher Modelle
- Überführung in HillCube-Modelle (DGLs)

## Setup Studie (grob)

---

- Messung Genexpression von Runx2, Dlx5 und Msx2 unter Zugabe von TFs BMP2, TGF $\beta$ 1 und Kombination
- Konstruktion Boolescher Modelle
- Überführung in HillCube-Modelle (DGLs)
- Rekonstruktion der experimentellen Daten mittels HillCube-Modelle

## Setup Studie (grob)

---

- Messung Genexpression von Runx2, Dlx5 und Msx2 unter Zugabe von TFs BMP2, TGF $\beta$ 1 und Kombination
- Konstruktion Boolescher Modelle
- Überführung in HillCube-Modelle (DGLs)
- Rekonstruktion der experimentellen Daten mittels HillCube-Modelle
- Testen der Vorhersagen der Modelle mit experimentellen Daten mittel Über- und Unterexpression

## Setup Studie (grob)

---

- Messung Genexpression von Runx2, Dlx5 und Msx2 unter Zugabe von TFs BMP2, TGF $\beta$ 1 und Kombination
- Konstruktion Boolescher Modelle
- Überführung in HillCube-Modelle (DGLs)
- Rekonstruktion der experimentellen Daten mittels HillCube-Modelle
- Testen der Vorhersagen der Modelle mit experimentellen Daten mittel Über- und Unterexpression  
→ Reduktion der möglichen Modelle ( $3^5 \rightarrow 1$ )

## Genexpression bzgl. WF

---

- Zugabe von BMP2, TGF $\beta$ 1, sowie Kombination in embryonische Stammzellenkultur

## Genexpression bzgl. WF

---

- Zugabe von BMP2, TGF $\beta$ 1, sowie Kombination in embryonische Stammzellenkultur
- Messung der Expression von Runx2, Dlx5 und Msx2, normalisiert an Kontrollgruppe (ohne Zugabe von Wachstumsfaktoren) an  $t \in \{0, 8, 16, 24(, 48)\}$



## Genexpression bzgl. WF

---

- Zugabe von BMP2, TGF $\beta$ 1, sowie Kombination in embryonische Stammzellenkultur
- Messung der Expression von Runx2, Dlx5 und Msx2, normalisiert an Kontrollgruppe (ohne Zugabe von Wachstumsfaktoren) an  $t \in \{0, 8, 16, 24, 48\}$
- System steady-state an  $t=24h$ ;  $t=48h$  verändert System nicht signifikant

# Boolsche Modelle: Kandidatennetzwerke

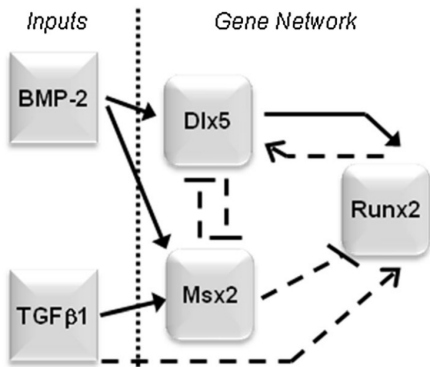
---

Modellierung Genregulationsnetzwerk nach Literatur:

## Boolsche Modelle: Kandidatennetzwerke

---

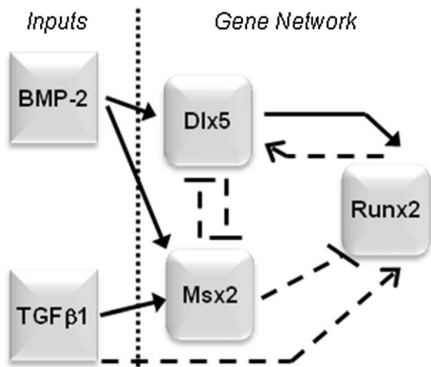
Modellierung Genregulationsnetzwerk nach Literatur:



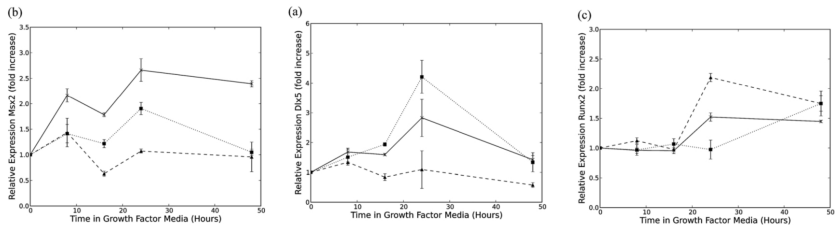
## Boolsche Modelle: Kandidatennetzwerke

---

Modellierung Genregulationsnetzwerk nach Literatur:



# Genexpression bzgl. WF: Ergebnis



— BMP2 - - - TGF $\beta$ 1 ..... BMP2/TGF $\beta$ 1

## Vergleich Expressionsprofile mit binären Daten

---

Vergleich Kandidatennetzwerke mit Expressionsdaten an  $t=24$ :

## Vergleich Expressionsprofile mit binären Daten

---

Vergleich Kandidatennetzwerke mit Expressionsdaten an t=24:

Time (hours)	Media	Gene expression		
		Dlx5	Msx2	Runx2
0		Off	Off	Off
24	BMP2	On	On	On
	TGF $\beta$ 1	Off	Off	On
	BMP2/TGF $\beta$ 1	On	On	Off

## Vergleich Expressionsprofile mit binären Daten

---

Vergleich Kandidatennetzwerke mit Expressionsdaten an t=24:

Time (hours)	Media	Gene expression		
		Dlx5	Msx2	Runx2
0		Off	Off	Off
24	BMP2	On	On	On
	TGF $\beta$ 1	Off	Off	On
	BMP2/TGF $\beta$ 1	On	On	Off

Daten Input in BM



# odefy

---

- Problem BM: weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen

# odefy

---

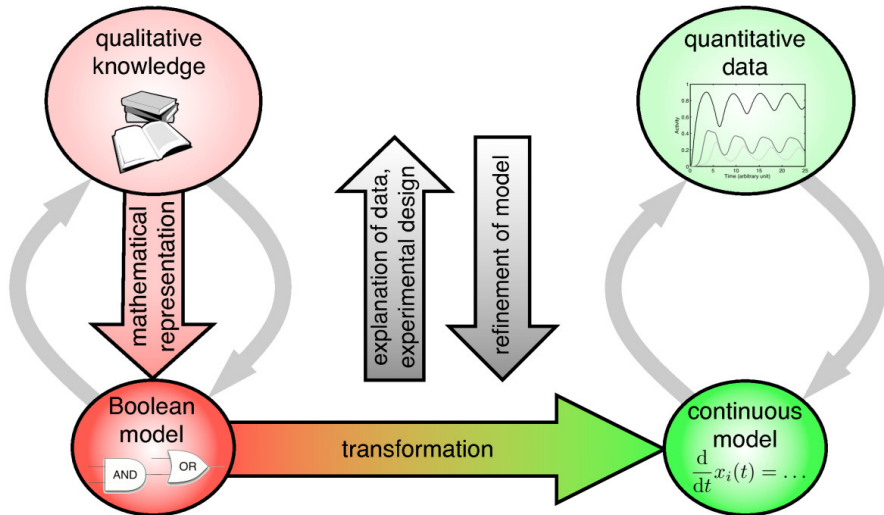
- Problem BM: weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen
- ODEs: Erlauben detailliertere und quantitative Charakterisierung der Genregulationsnetzwerke

# odefy

---

- Problem BM: weder kontinuierliche Konzentrationslevel noch realistische Zeitskalen
- ODEs: Erlauben detailliertere und quantitative Charakterisierung der Genregulationsnetzwerke
- stabile steady-states in ODEs: Zellphänotypen

# odefy



# HillCube-Modell

---

$\overline{B}_i$  HillCube-Modell von  $\overline{x}_i$ ;

# HillCube-Modell

---

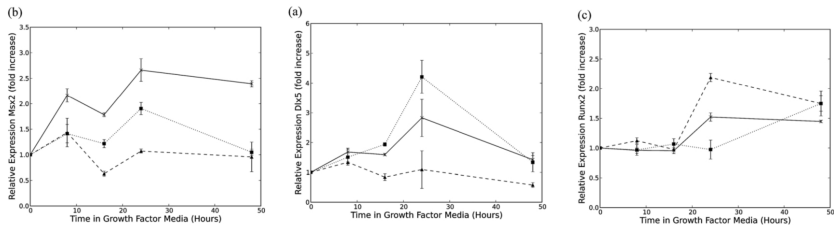
$\overline{B}_i$  HillCube-Modell von  $\overline{x}_i$ ;

Differentialgleichung  $\dot{\overline{x}}_i = \frac{1}{\tau_i} (\overline{B}_i(\overline{x}_{i_1}, \overline{x}_{i_2}, \dots, \overline{x}_{i_{N_i}}) - \overline{x}_i)$

mit  $\tau_i$  Lebensdauer der Spezies  $X_i$

# Expressionsprofile

---

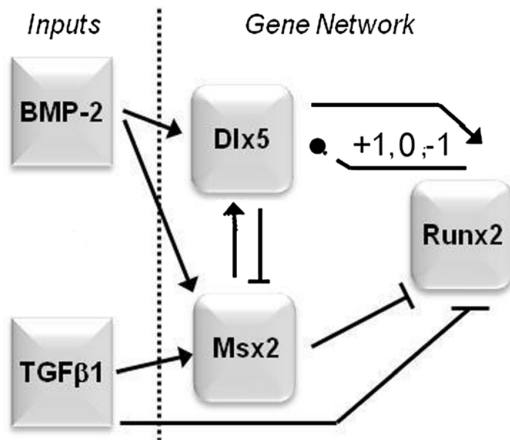


— BMP2 - - - TGF $\beta$ 1 ..... BMP2/TGF $\beta$ 1

# Reduzierte Kandidatennetzwerke

---

Modelle, die Verhalten reproduzieren:





## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )

## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )
- Vorhersage steady-state Dlx5, Msx2; Verhalten von Runx2 unklar

## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )
- Vorhersage steady-state Dlx5, Msx2; Verhalten von Runx2 unklar
- Runx2 reguliert Dlx5 positiv: up-regulation in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; down-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1

## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )
- Vorhersage steady-state Dlx5, Msx2; Verhalten von Runx2 unklar
- Runx2 reguliert Dlx5 positiv: up-regulation in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; down-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Ansonsten down-regulation von Dlx5 in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; up-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1

## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )
- Vorhersage steady-state Dlx5, Msx2; Verhalten von Runx2 unklar
- Runx2 reguliert Dlx5 positiv: up-regulation in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; down-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Ansonsten down-regulation von Dlx5 in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; up-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Vergleichen Vorhersage mit Daten wenn Runx2 überexprimiert

## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )
- Vorhersage steady-state Dlx5, Msx2; Verhalten von Runx2 unklar
- Runx2 reguliert Dlx5 positiv: up-regulation in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; down-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Ansonsten down-regulation von Dlx5 in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; up-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Vergleichen Vorhersage mit Daten wenn Runx2 überexprimiert
- Ergebnis Experiment: BM Oszillation in TGF $\beta$ 1

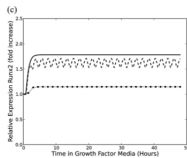
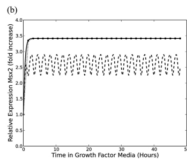
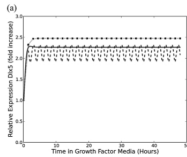
## Testen Vorhersage Über- und Unterproduktion

---

- Vorhersage Verhalten bei Über und Unterproduktion von TFs (Var.  $\in \{0, 1\}$ )
- Vorhersage steady-state Dlx5, Msx2; Verhalten von Runx2 unklar
- Runx2 reguliert Dlx5 positiv: up-regulation in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; down-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Ansonsten down-regulation von Dlx5 in TGF $\beta$ 1 und Kontrollmedium; up-regulation von Msx2 in TGF $\beta$ 1
- Vergleichen Vorhersage mit Daten wenn Runx2 überexprimiert
- Ergebnis Experiment: BM Oszillation in TGF $\beta$ 1  
ODE-modell: Stabile Oszillation nur wenn Runx2 Dlx5 neg. reg.

# Oszillationen

---





# Zusammenfassung

---

- Biologisches Wissen für Konstruktion von Kandidatennetzwerken (BM)

# Zusammenfassung

---

- Biologisches Wissen für Konstruktion von Kandidatennetzwerken (BM)
- Vergleich mit experimentellen Daten: Reduktion auf 3 GRNs

# Zusammenfassung

---

- Biologisches Wissen für Konstruktion von Kandidatennetzwerken (BM)
- Vergleich mit experimentellen Daten: Reduktion auf 3 GRNs
- Überführung in ODEs, Vergleich mit experimentellen Daten: Reduktion auf 1

Kritik

---

## Kritik Setup Studie

---

- Rolle von  $TGF\beta 1$  in Osteogenese hängt von Zelltyp und lokaler Umgebung ab  
Zelltyp und lokale Umgebung spielen keine Rolle in Studie

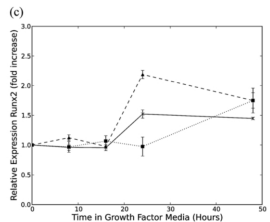
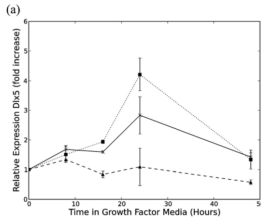
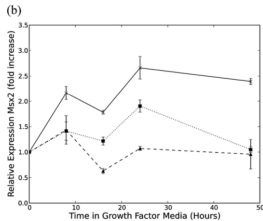
# Kritik Setup Studie

---

- Rolle von  $TGF\beta 1$  in Osteogenese hängt von Zelltyp und lokaler Umgebung ab  
Zelltyp und lokale Umgebung spielen keine Rolle in Studie
- Keine (kritische) Reflexion welche GRNs betrachtet werden

# Kritik Interpretation Daten

Expression an t=48 nicht auf baseline zurückgekehrt (oder stabil) für Runx2 und Msx2:



— BMP2 - - TGFβ1 ..... BMP2/TGFβ1

## Kritik Setup boolsches Netzwerk

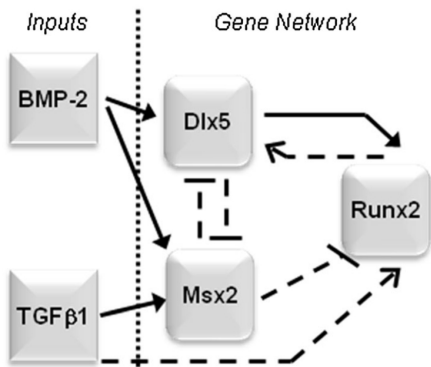
---

- Wird gesagt, dass BMP2 Runx2 moderiert, TGF $\beta$ 1 Dlx5 supprimiert, aber Einfluss von BMP2 auf Runx2, sowie TGF $\beta$ 1 auf Dlx5 nicht modelliert



## Kritik Setup boolsches Netzwerk

---



## Kritik Setup boolsches Netzwerk

---

- Wird gesagt, dass BMP2 Runx2 moderiert, TGF $\beta$ 1 Dlx5 supprimiert, aber Einfluss von BMP2 auf Runx2, sowie TGF $\beta$ 1 auf Dlx5 nicht modelliert

## Kritik Setup boolsches Netzwerk

---

- Wird gesagt, dass BMP2 Runx2 moderiert, TGF $\beta$ 1 Dlx5 supprimiert, aber Einfluss von BMP2 auf Runx2, sowie TGF $\beta$ 1 auf Dlx5 nicht modelliert  
Sinnvoll 0 Studien als keinen Einfluss, 1 Studie ungesichert, 2 Studien gesichert?

## Kritik Setup boolsches Netzwerk

---

- Wird gesagt, dass BMP2 Runx2 moderiert, TGF $\beta$ 1 Dlx5 supprimiert, aber Einfluss von BMP2 auf Runx2, sowie TGF $\beta$ 1 auf Dlx5 nicht modelliert  
Sinnvoll 0 Studien als keinen Einfluss, 1 Studie ungesichert, 2 Studien gesichert?
- Ebenfalls: Kein Unterschied ob kein Einfluss oder keine Studien (bekannt)

## Kritik Aufbau paper

---

- Mehr Hintergrund und Umsetzung über HillCube nötig gewesen

## Kritik Aufbau paper

---

- Mehr Hintergrund und Umsetzung über HillCube nötig gewesen
- Teil der Über- / Unterexpression methodisch nicht sehr deutlich

## Kritik Aufbau paper

---

- Mehr Hintergrund und Umsetzung über HillCube nötig gewesen
- Teil der Über- / Unterexpression methodisch nicht sehr deutlich
- Schlussfolgerungen / Ergebnisse und Methoden vermischt  
(könnte systematischer aufgebaut sein)

## Kritik Aufbau paper

---

- Mehr Hintergrund und Umsetzung über HillCube nötig gewesen
- Teil der Über- / Unterexpression methodisch nicht sehr deutlich
- Schlussfolgerungen / Ergebnisse und Methoden vermischt  
(könnte systematischer aufgebaut sein)
- Diskussion und Schlussfolgerung: bereits in Methodik dargestellt



## Kritik theoretischer Mehrwert

---

- Spezielles GRN gewählt; Keine Diskussion ob andere GRN passend (nicht ausreichend begründet)

## Kritik theoretischer Mehrwert

---

- Spezielles GRN gewählt; Keine Diskussion ob andere GRN passend (nicht ausreichend begründet)
- Allgemeine Betrachtung fehlt: Wann funktioniert Methode, wann nicht?

## Kritik theoretischer Mehrwert

---

- Spezielles GRN gewählt; Keine Diskussion ob andere GRN passend (nicht ausreichend begründet)
- Allgemeine Betrachtung fehlt: Wann funktioniert Methode, wann nicht?

Wie gross darf ein GRN werden?

## Kritik theoretischer Mehrwert

---

- Spezielles GRN gewählt; Keine Diskussion ob andere GRN passend (nicht ausreichend begründet)
- Allgemeine Betrachtung fehlt: Wann funktioniert Methode, wann nicht?

Wie gross darf ein GRN werden? Unterschied Gene / WFs?

# Kritik theoretischer Mehrwert

---

- Spezielles GRN gewählt; Keine Diskussion ob andere GRN passend (nicht ausreichend begründet)
- Allgemeine Betrachtung fehlt: Wann funktioniert Methode, wann nicht?

Wie gross darf ein GRN werden? Unterschied Gene / WFs?

Welche topologischen / biologischen Eigenschaften muss es aufweisen?

# Kritik theoretischer Mehrwert

---

- Spezielles GRN gewählt; Keine Diskussion ob andere GRN passend (nicht ausreichend begründet)
- Allgemeine Betrachtung fehlt: Wann funktioniert Methode, wann nicht?

Wie gross darf ein GRN werden? Unterschied Gene / WFs?

Welche topologischen / biologischen Eigenschaften muss es aufweisen?

Welche Szenarios können gewählt werden um GRNs zu reduzieren (wie Über- / Unterexpression)?

# Selbstkritik

---

- Einzige Selbstkritik: Viele signal processes und Geninteraktionen (die Osteogenese beeinflussen) nicht modelliert

# Selbstkritik

---

- Einzige Selbstkritik: Viele signal processes und Geninteraktionen (die Osteogenese beeinflussen) nicht modelliert  
Mehr Daten werden das Problem lösen



# Selbstkritik

---

- Einzige Selbstkritik: Viele signal processes und Geninteraktionen (die Osteogenese beeinflussen) nicht modelliert  
Mehr Daten werden das Problem lösen  
Selbstaussage paper: Methodik kann auf jedes GRN angewendet werden

# Praktikumsarbeit

---

# Optimaler Fall

---

Nachvollziehen der Studie:

- Hernahme von Expressionsdaten verschiedener Gene in verschiedenen Medien

# Optimaler Fall

---

Nachvollziehen der Studie:

- Hernahme von Expressionsdaten verschiedener Gene in verschiedenen Medien
- Konstruktion Boolesches Modell / HillCube Modell

# Optimaler Fall

---

Nachvollziehen der Studie:

- Hernahme von Expressionsdaten verschiedener Gene in verschiedenen Medien
- Konstruktion Boolesches Modell / HillCube Modell
- Reduktion Kandidatennetzwerke

## Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)

## Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)

# Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)
- Konstruktion HillCube Modelle mittels odefy



# Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)
- Konstruktion HillCube Modelle mittels ode45  
Ausarbeitung der Mathematik

# Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)
- Konstruktion HillCube Modelle mittels odepy  
Ausarbeitung der Mathematik  
→ mathematischer Fokus

# Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)
- Konstruktion HillCube Modelle mittels odepy  
Ausarbeitung der Mathematik  
→ mathematischer Fokus  
Auch sinnvoll, da im paper vernachlässigt

# Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)
- Konstruktion HillCube Modelle mittels ode45  
Ausarbeitung der Mathematik  
→ mathematischer Fokus  
Auch sinnvoll, da im paper vernachlässigt
- Nachmodellieren des Oszillationsverhaltens bei Über- / Unterexpression

# Realistischer Fall

---

- Vermutlich schwer (gute) Genexpressionsdaten für geeignete (hinreichend kleine) Netzwerke zu finden (Ideen?)  
→ Extraktion der 45 Datenpunkte aus paper (nachbauen)
- Konstruktion HillCube Modelle mittels ode45  
Ausarbeitung der Mathematik  
→ mathematischer Fokus  
Auch sinnvoll, da im paper vernachlässigt
- Nachmodellieren des Oszillationsverhaltens bei Über- / Unterexpression  
Potentiell problematisch; Kann die Sensitivität nicht einschätzen

# Appendix

---

## Formale Darstellung boolsches Modell

---

- $N$  Spezies  $X_1, X_2, \dots, X_N$  mit  $x_i \in \{0, 1\}$

# Formale Darstellung boolsches Modell

---

- $N$  Spezies  $X_1, X_2, \dots, X_N$  mit  $x_i \in \{0, 1\}$
- Für jede Spezies: Menge von Spezies, die  $x_i$  beeinflussen:  
 $R_i := \{X_{i_1}, X_{i_2}, \dots, X_{i_{N_i}}\} \subset \{X_1, \dots, X_N\}$



# Formale Darstellung boolsches Modell

---

- $N$  Spezies  $X_1, X_2, \dots, X_N$  mit  $x_i \in \{0, 1\}$
- Für jede Spezies: Menge von Spezies, die  $x_i$  beeinflussen:  
 $R_i := \{X_{i_1}, X_{i_2}, \dots, X_{i_{N_i}}\} \subset \{X_1, \dots, X_N\}$  ,  
sowie eine Aktualisierungsfunktion  $B_i : \{0, 1\}^{N_i} \rightarrow \{0, 1\}$  für jede  
Kombination von  $(x_{i_1}, \dots, x_{i_2}, x_{i_{N_i}}) \in \{0, 1\}^{N_i}$

# Formale Darstellung boolsches Modell

---

- $N$  Spezies  $X_1, X_2, \dots, X_N$  mit  $x_i \in \{0, 1\}$
- Für jede Spezies: Menge von Spezies, die  $x_i$  beeinflussen:  
 $R_i := \{X_{i_1}, X_{i_2}, \dots, X_{i_{N_i}}\} \subset \{X_1, \dots, X_N\}$ ,  
sowie eine Aktualisierungsfunktion  $B_i : \{0, 1\}^{N_i} \rightarrow \{0, 1\}$  für jede Kombination von  $(x_{i_1}, \dots, x_{i_2}, x_{i_{N_i}}) \in \{0, 1\}^{N_i}$
- Betrachte  $B_i$  auf (Hyper-)Einheitswürfel: Knoten  
 $(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) \in \{0, 1\}^{N_i}$  entspricht  $(\bigwedge_{ij|\xi_{ij}=1} x_{ij}) \wedge (\bigwedge_{ij|\xi_{ij}=0} \neg x_{ij})$

## Formale Darstellung boolsches Modell

---

- sum-of-product Repräsentation:  $B(x_{i_1}, \dots, x_{i_2}, x_{i_{N_i}}) =$   
$$\bigvee_{(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) | B_i(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) = 1} [(\bigwedge_{ij | \xi_{ij} = 1} x_{ij}) \wedge (\bigwedge_{ij | \xi_{ij} = 0} \neg x_{ij})]$$

# Formale Darstellung boolsches Modell

---

- sum-of-product Repräsentation:  $B(x_{i_1}, \dots, x_{i_2}, x_{i_{N_i}}) = \bigvee_{(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) | B_i(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) = 1} [(\bigwedge_{ij | \xi_{ij} = 1} x_{ij}) \wedge (\bigwedge_{ij | \xi_{ij} = 0} \neg x_{ij})]$
- Nun ersetzen von  $x_i \in \{0, 1\}$  durch  $\bar{x}_i \in [0, 1] \rightarrow \bar{B}_i : [0, 1]^n \rightarrow [0, 1]$ : kontinuierliche homologe von  $B_i$

# Formale Darstellung boolsches Modell

---

- sum-of-product Repräsentation:  $B(x_{i_1}, \dots, x_{i_2}, x_{i_{N_i}}) = \bigvee_{(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) | B_i(\xi_{i_1}, \dots, \xi_{i_2}, \xi_{i_{N_i}}) = 1} [(\bigwedge_{ij | \xi_{ij}=1} x_{ij}) \wedge (\bigwedge_{ij | \xi_{ij}=0} \neg x_{ij})]$
- Nun ersetzen von  $x_i \in \{0, 1\}$  durch  $\overline{x}_i \in [0, 1] \rightarrow \overline{B}_i : [0, 1]^n \rightarrow [0, 1]$ : kontinuierliche homologue von  $B_i$
- Normalisierte HillCubes:  
$$\overline{B}_{n_i}^H(\overline{x}_1, \overline{x}_2, \dots, \overline{x}_n) := \overline{B}_i^I\left(\frac{f_{i_1}(\overline{x}_{i_1})}{f_{i_1}(1)}, \frac{f_{i_2}(\overline{x}_{i_2})}{f_{i_2}(2)}, \dots, \frac{f_{i_n}(\overline{x}_{i_n})}{f_{i_n}(n)}\right)$$

# HillCubes

---

- $\overline{B_i}^I$ : lineare Interpolation von  $B_i$  mittels multivariater polynomialer Interpolation: BooleCubes.

# HillCubes

---

- $\overline{B}_i^I$ : lineare Interpolation von  $B_i$  mittels multivariater polynomialer Interpolation: BooleCubes.  $\overline{B}_i^I$  affin multilinear:  
 $1 \leq j \leq N_i, \overline{x}_{ik} \text{ fix} : \exists a, b \in \mathbb{R} : \overline{B}_i^I(\overline{x}_{i1}, \overline{x}_{i2}, \dots, \overline{x}_{iN_i}) = a + b\overline{x}_{ij}$

# HillCubes

---

- $\overline{B}_i^I$ : lineare Interpolation von  $B_i$  mittels multivariater polynomialer Interpolation: BooleCubes.  $\overline{B}_i^I$  affin multilinear:  
 $1 \leq j \leq N_i, \overline{x}_{ik} \text{ fix} : \exists a, b \in \mathbb{R} : \overline{B}_i^I(\overline{x}_{i1}, \overline{x}_{i2}, \dots, \overline{x}_{iN_i}) = a + b\overline{x}_{ij}$
- f: Hill-Funktionen:  $f(\overline{x}) = \frac{\overline{x}^n}{\overline{x}^n + k^n}$



# HillCubes

---

- $\overline{B}_i'$ : lineare Interpolation von  $B_i$  mittels multivariater polynomialer Interpolation: BooleCubes.  $\overline{B}_i'$  affin multilinear:  
 $1 \leq j \leq N_i, \overline{x}_{ik} \text{ fix} : \exists a, b \in \mathbb{R} : \overline{B}_i'(\overline{x}_{i1}, \overline{x}_{i2}, \dots, \overline{x}_{iN_i}) = a + b\overline{x}_{ij}$
- f: Hill-Funktionen:  $f(\overline{x}) = \frac{\overline{x}^n}{\overline{x}^n + k^n}$
- Sigmoidale Funktionen mit  
n: Anstieg der Funktion: Kooperativität der Interaktion  
k: Schwellenwert des Booleschen Modelles (Halbmaximalität von f)

# HillCubes

---

- $\overline{B}_i^I$ : lineare Interpolation von  $B_i$  mittels multivariater polynomialer Interpolation: BooleCubes.  $\overline{B}_i^I$  affin multilinear:  
 $1 \leq j \leq N_i, \overline{x}_{ik} \text{ fix} : \exists a, b \in \mathbb{R} : \overline{B}_i^I(\overline{x}_{i1}, \overline{x}_{i2}, \dots, \overline{x}_{iN_i}) = a + b\overline{x}_{ij}$
- f: Hill-Funktionen:  $f(\overline{x}) = \frac{\overline{x}^n}{\overline{x}^n + k^n}$
- Sigmoidale Funktionen mit  
n: Anstieg der Funktion: Kooperativität der Interaktion  
k: Schwellenwert des Booleschen Modelles (Halbmaximalität von f)
- $\frac{f_{i_\ell}(\overline{x}_{i_\ell})}{f_{i_\ell}(\ell)}$ : Normalisierung, sodass  $f(\zeta) = 1$  erreicht wird

# Eigenschaften HillCubes

---

- $\overline{B} := \overline{B}_{n_i}^H(\overline{x_1}, \overline{x_2}, \dots, \overline{x_n}) := \overline{B}_i^I\left(\frac{f_{i_1}(\overline{x_{i_1}})}{f_{i_1}(1)}, \frac{f_{i_2}(\overline{x_{i_2}})}{f_{i_2}(2)}, \dots, \frac{f_{i_n}(\overline{x_{i_n}})}{f_{i_n}(n)}\right)$  ist perfektes Homolog von  $B_i$

# Eigenschaften HillCubes

---

- $\overline{B} := \overline{B}_{n_i}^H(\overline{x_1}, \overline{x_2}, \dots, \overline{x_n}) := \overline{B}_i^I(\frac{f_{i_1}(\overline{x_{i_1}})}{f_{i_1}(1)}, \frac{f_{i_2}(\overline{x_{i_2}})}{f_{i_2}(2)}, \dots, \frac{f_{i_n}(\overline{x_{i_n}})}{f_{i_n}(n)})$  ist perfektes Homolog von  $B_i$
- steady-states von Booleschen Modellen übertragen sich

# Eigenschaften HillCubes

---

- $\overline{B} := \overline{B}_{n_i}^H(\overline{x_1}, \overline{x_2}, \dots, \overline{x_n}) := \overline{B}_i^I(\frac{f_{i_1}(\overline{x_{i_1}})}{f_{i_1}(1)}, \frac{f_{i_2}(\overline{x_{i_2}})}{f_{i_2}(2)}, \dots, \frac{f_{i_n}(\overline{x_{i_n}})}{f_{i_n}(n)})$  ist perfektes Homolog von  $B_i$
- steady-states von Booleschen Modellen übertragen sich
- HillCubes stimmen auf Knoten mit BoolCubes überein

# Eigenschaften HillCubes

---

- $\overline{B} := \overline{B}_{n_i}^H(\overline{x_1}, \overline{x_2}, \dots, \overline{x_n}) := \overline{B}_i^I(\frac{f_{i_1}(\overline{x_{i_1}})}{f_{i_1}(1)}, \frac{f_{i_2}(\overline{x_{i_2}})}{f_{i_2}(2)}, \dots, \frac{f_{i_n}(\overline{x_{i_n}})}{f_{i_n}(n)})$  ist perfektes Homolog von  $B_i$
- steady-states von Booleschen Modellen übertragen sich
- HillCubes stimmen auf Knoten mit BoolCubes überein
- Haben 'schöne' analytische Eigenschaften (bspw. Stetigkeit)

# Eigenschaften HillCubes

---

- $\overline{B} := \overline{B}_{n_i}^H(\overline{x_1}, \overline{x_2}, \dots, \overline{x_n}) := \overline{B}_i^I(\frac{f_{i_1}(\overline{x_{i_1}})}{f_{i_1}(1)}, \frac{f_{i_2}(\overline{x_{i_2}})}{f_{i_2}(2)}, \dots, \frac{f_{i_n}(\overline{x_{i_n}})}{f_{i_n}(n)})$  ist perfektes Homolog von  $B_i$
- steady-states von Booleschen Modellen übertragen sich
- HillCubes stimmen auf Knoten mit BoolCubes überein
- Haben 'schöne' analytische Eigenschaften (bspw. Stetigkeit)
- Eindeutige minimale Lösung innerhalb Funktionenklasse

# Konstruktion kontinuierliches Modell

---

- Option 1 (zeitdiskretes Modell):

$$\bar{x}_i(t+1) = \bar{B}_i(\bar{x}_{i_1}(t), \bar{x}_{i_2}(t), \dots, \bar{x}_{i_{N_i}}(t))$$



# Konstruktion kontinuierliches Modell

---

- Option 1 (zeitdiskretes Modell):

$$\bar{x}_i(t+1) = \bar{B}_i(\bar{x}_{i_1}(t), \bar{x}_{i_2}(t), \dots, \bar{x}_{i_{N_i}}(t))$$

Nachteil: Unstetigkeit lässt analytische Methoden nicht zu

# Konstruktion kontinuierliches Modell

---

- Option 1 (zeitdiskretes Modell):

$$\bar{x}_i(t+1) = \bar{B}_i(\bar{x}_{i_1}(t), \bar{x}_{i_2}(t), \dots, \bar{x}_{i_{N_i}}(t))$$

Nachteil: Unstetigkeit lässt analytische Methoden nicht zu

- Option 2 (zeitkontinuierliches Modell): Annahme:  $\bar{B}_i$  ist Produktionsrate von  $\bar{x}_i$ , Abbau mit Rate  $\bar{x}_i$ :

# Konstruktion kontinuierliches Modell

---

- Option 1 (zeitdiskretes Modell):

$$\bar{x}_i(t+1) = \bar{B}_i(\bar{x}_{i_1}(t), \bar{x}_{i_2}(t), \dots, \bar{x}_{i_{N_i}}(t))$$

Nachteil: Unstetigkeit lässt analytische Methoden nicht zu

- Option 2 (zeitkontinuierliches Modell): Annahme:  $\bar{B}_i$  ist

Produktionsrate von  $\bar{x}_i$ , Abbau mit Rate  $\bar{x}_i$ :

$$\text{Differentialgleichung } \dot{\bar{x}}_i = \frac{1}{\tau_i}(\bar{B}_i(\bar{x}_{i_1}, \bar{x}_{i_2}, \dots, \bar{x}_{i_{N_i}}) - \bar{x}_i)$$

mit  $\tau_i$  Lebensdauer der Spezies  $X_i$