

Systembiologie I: Mathematische Modellierung mit Differenzialgleichungen

Dr. Marcel Schilling

Abteilung Systembiologie der Signaltransduktion

Fortschritte in den theoretischen Wissenschaften



Gottfried Leibniz



Ludwig v. Bertalanffy

1684

Systemkonzept

- einfache, unteilbare Substanz

1948

Kybernetik

- Kontroll- und Kommunikationstheorie
- Rückkopplung



Norbert Wiener

1949

Allgemeine Systemtheorie

- Organisation and Zusammenhänge von nicht-stationären Strukturen
- Systemeigenschaften
- Systemdynamik



Fortschritte in der Zell- und Molekularbiologie



Oswald Avery



Fredrick Sanger

1858

Zell-Theorie



Rudolf Virchow

1944

DNA ist Erbstubstanz

1968

Restriktionsenzyme

1977

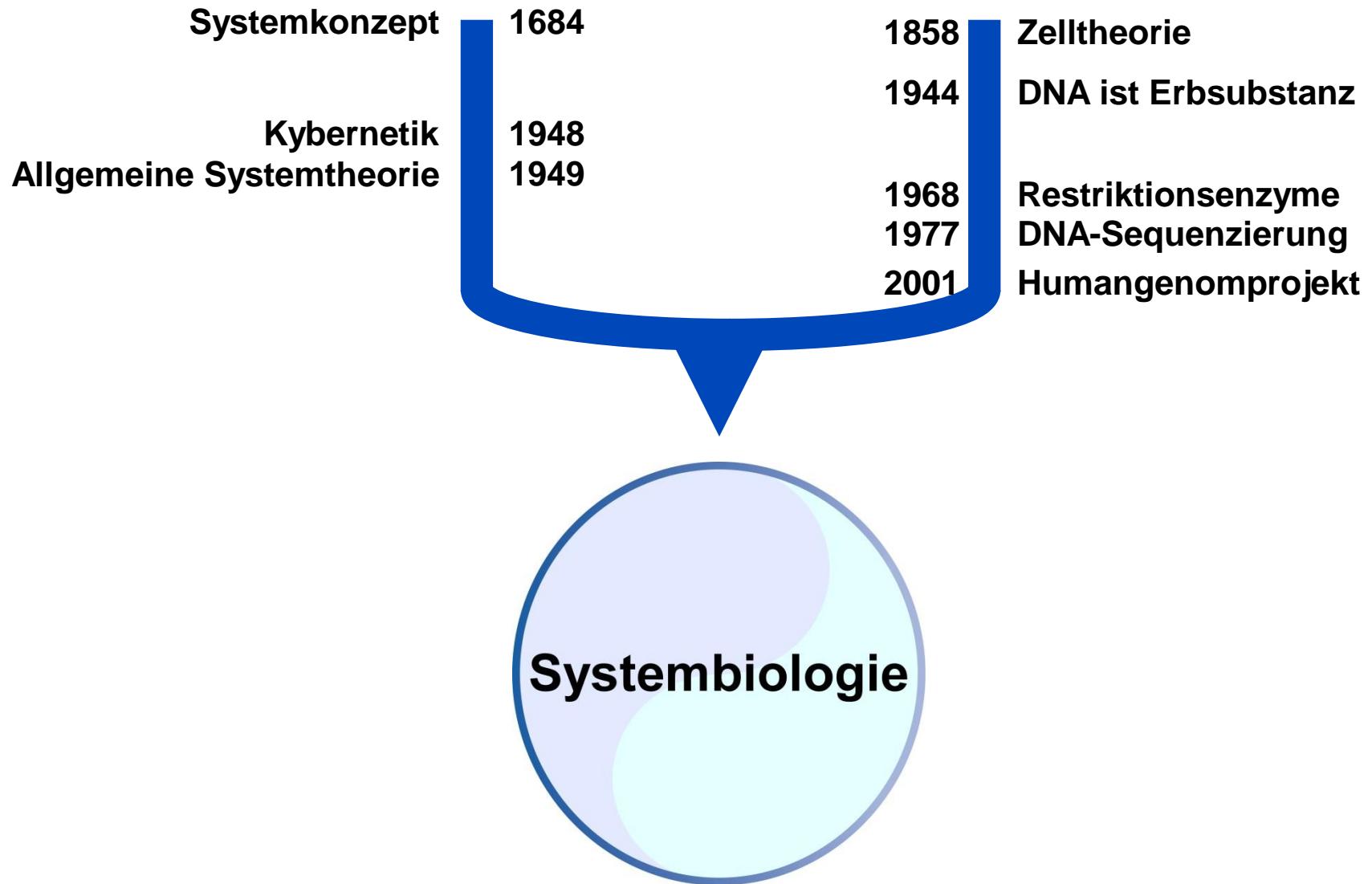
DNA-Sequenzierung

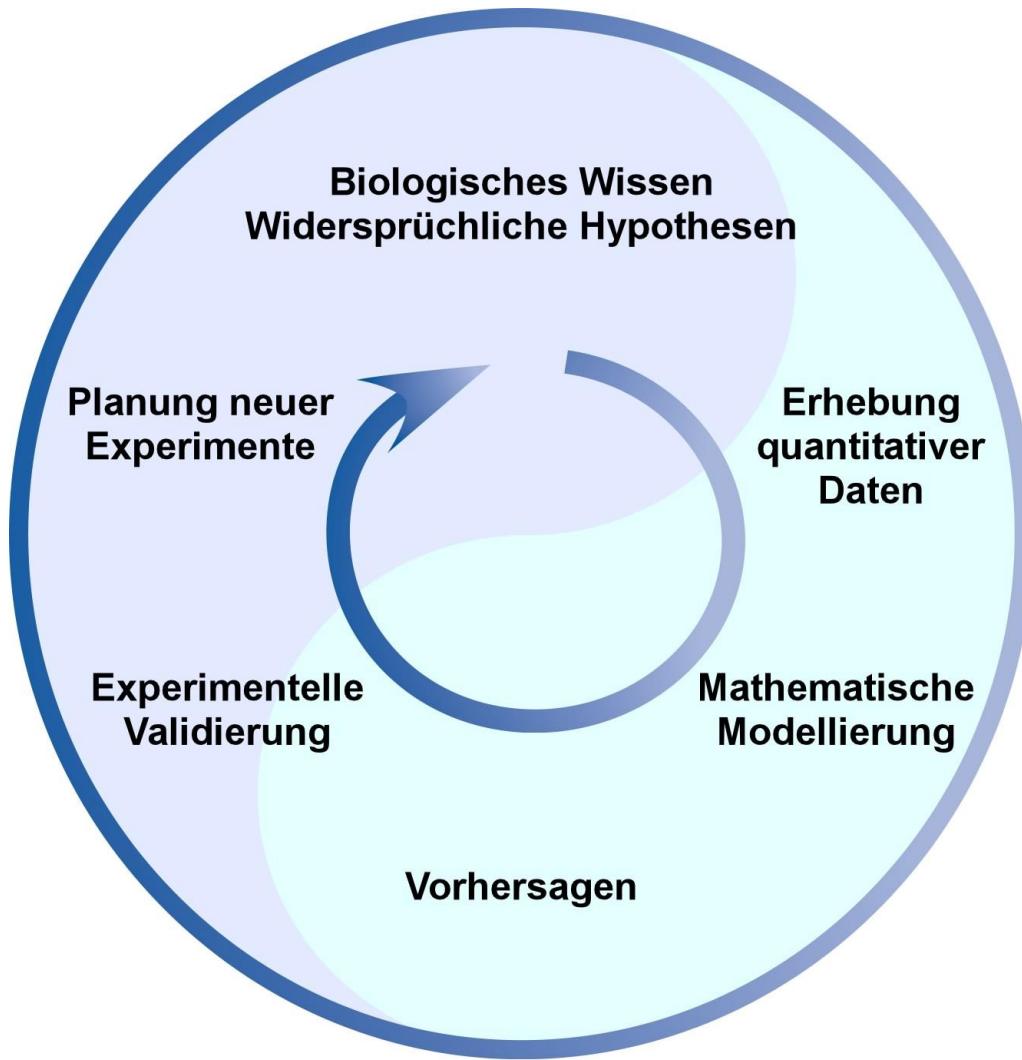
2001

Humangenomprojekt



Geschichte der Systembiologie





→ Enge Zusammenarbeit von Experimentatoren und Theoretikern

Informationsaustausch

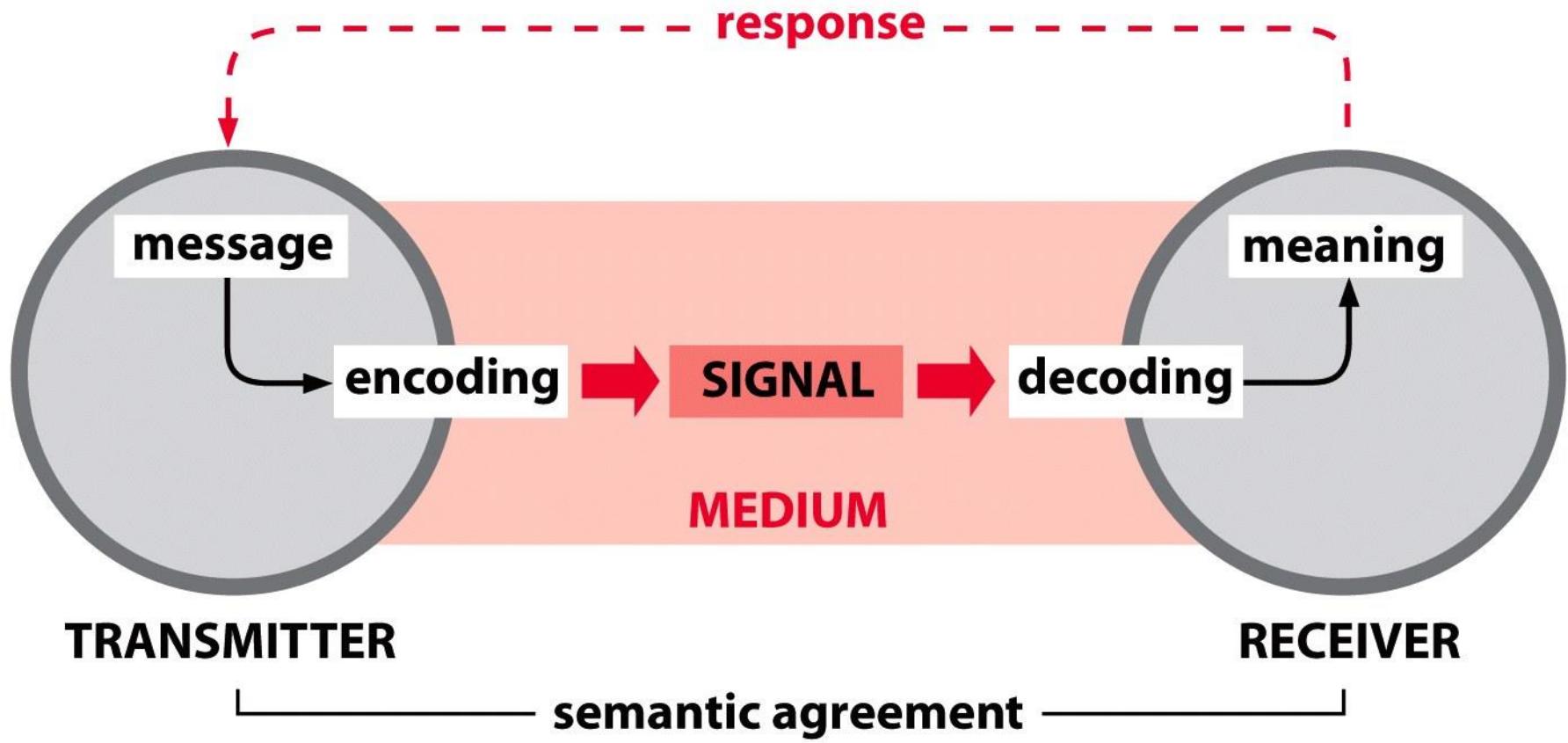


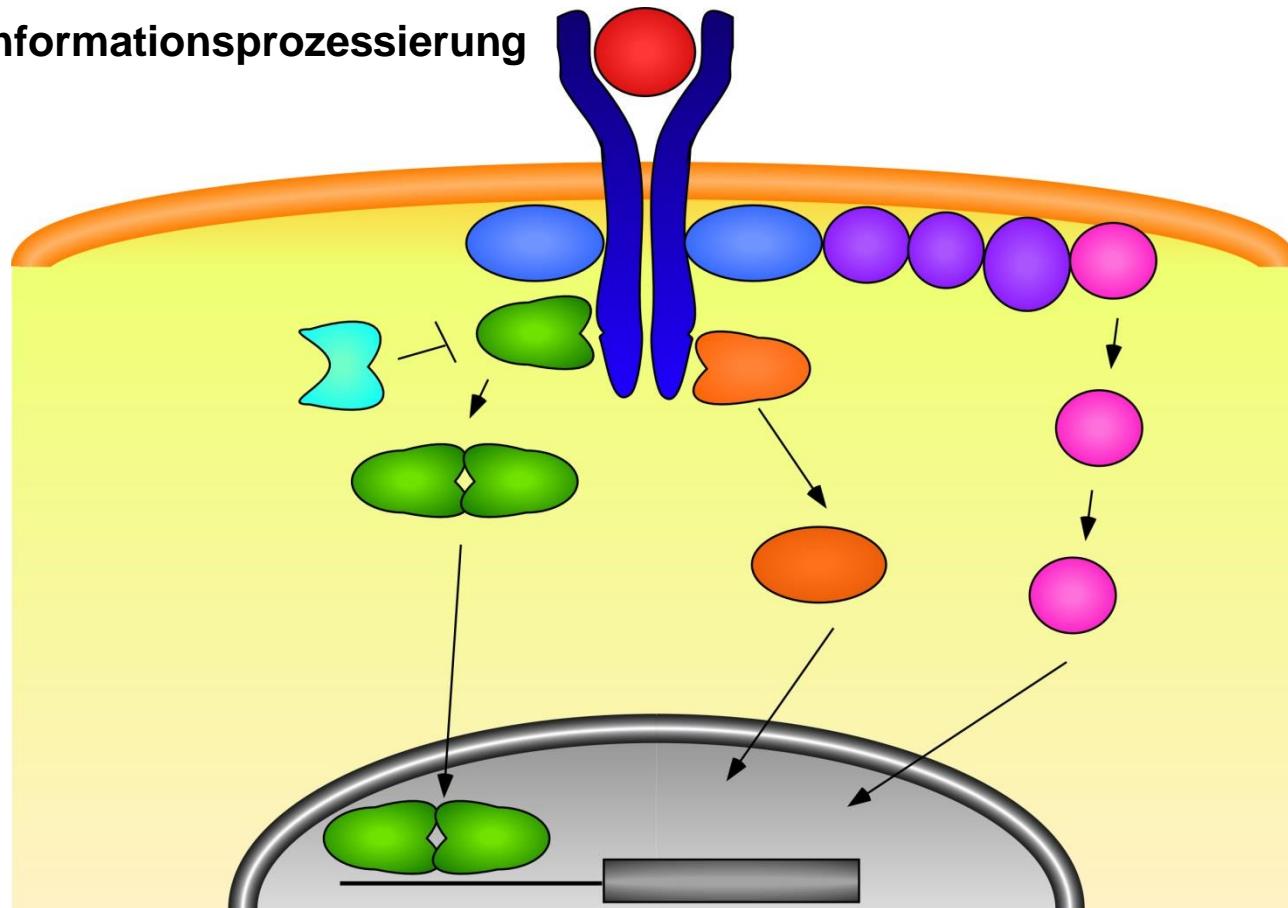
Figure 1.2 Cellular Signal Processing (© Garland Science 2009)

Signaltransduktion

Informationsverarbeitung durch intrazelluläre Signaltransduktion

Signal

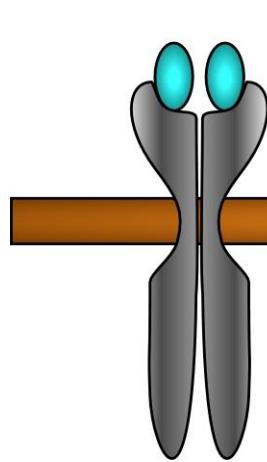
Intrazelluläre Informationsverarbeitung



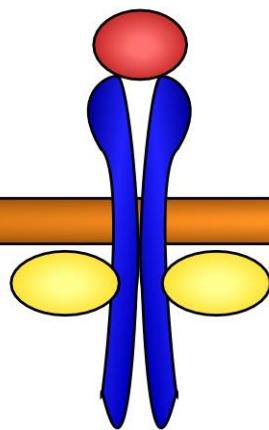
Zelluläre Antwort Überleben Proliferation Migration Differenzierung

Signalwege – Reaktionen am Rezeptor

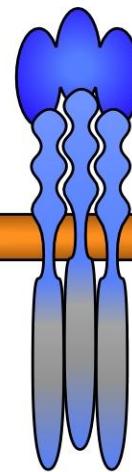
Receptor
Tyrosine
kinase



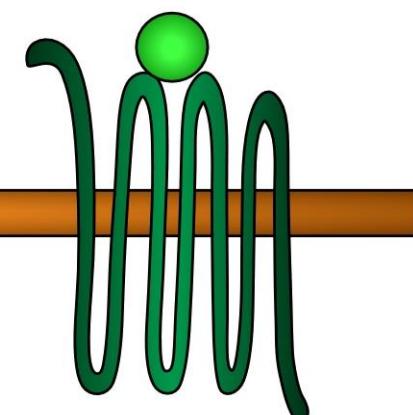
Cytokine
receptor



Death
receptor



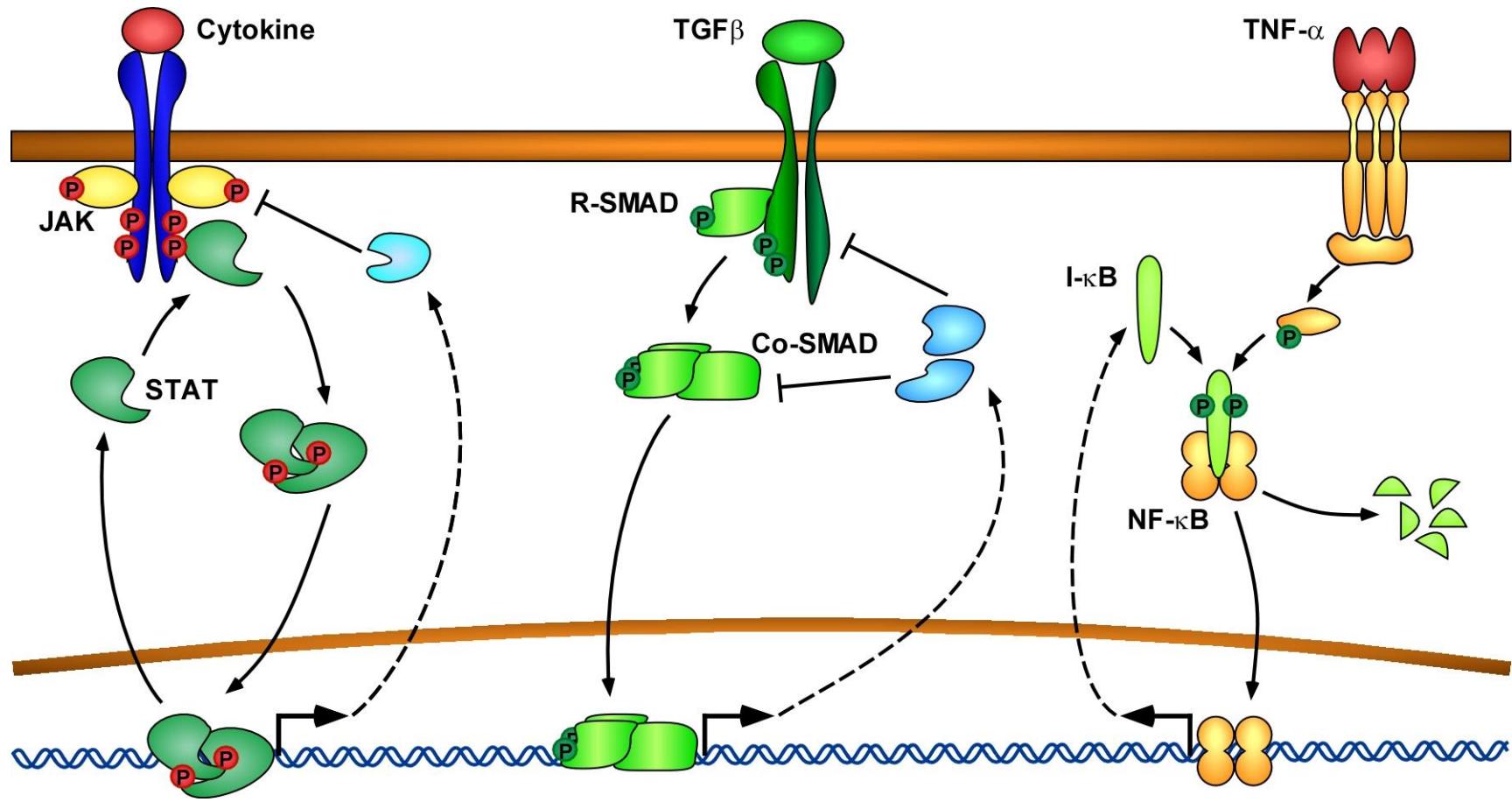
G protein -
coupled
receptor



- Aktivierung durch Ligandenbindung
- Umwandlung der extrazellulären Signale in intrazelluläre Signale

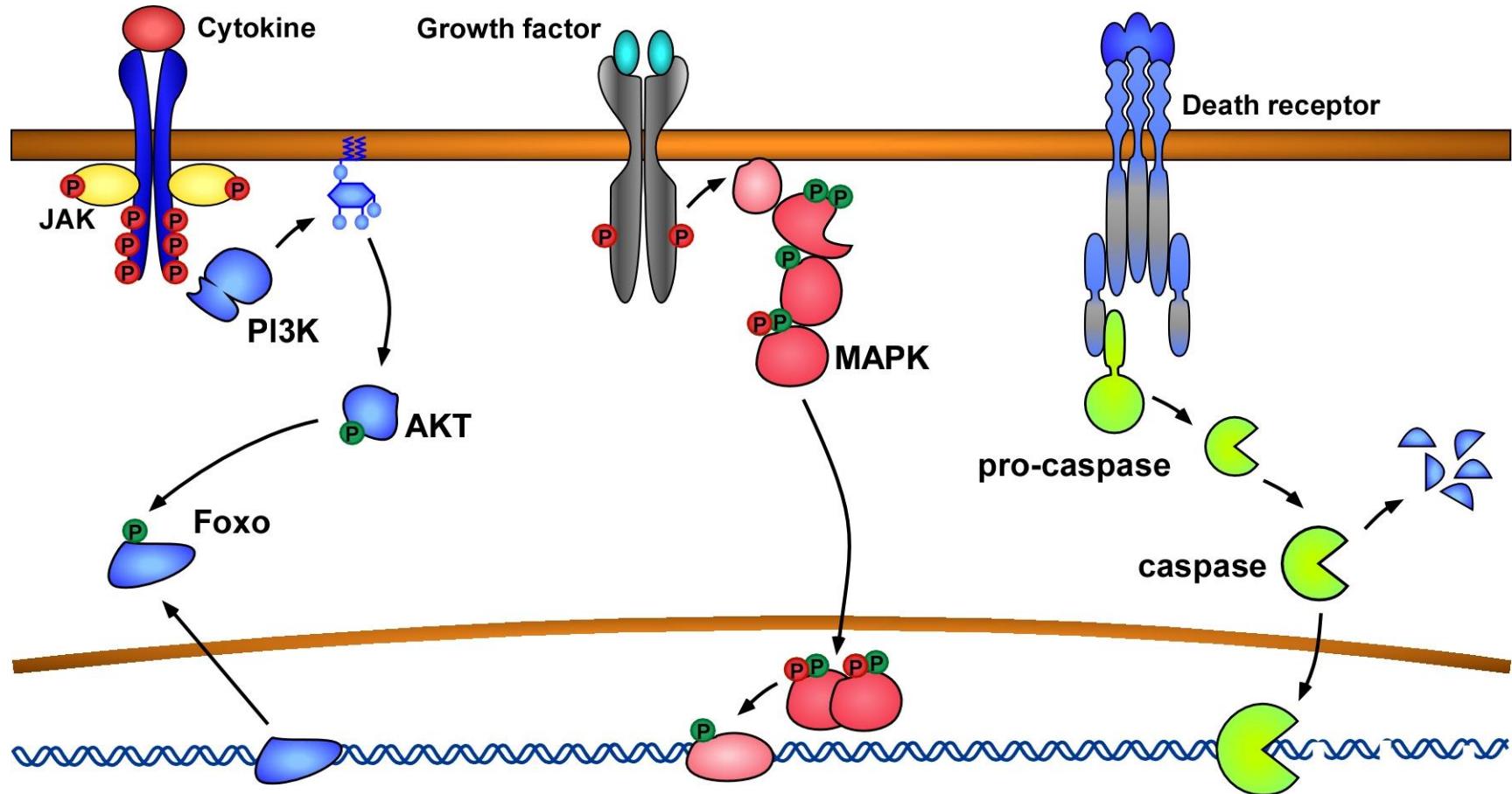
- Terminierung durch
 - Phosphatasen
 - Endozytose

Signalwege – intrazelluläre Reaktionen



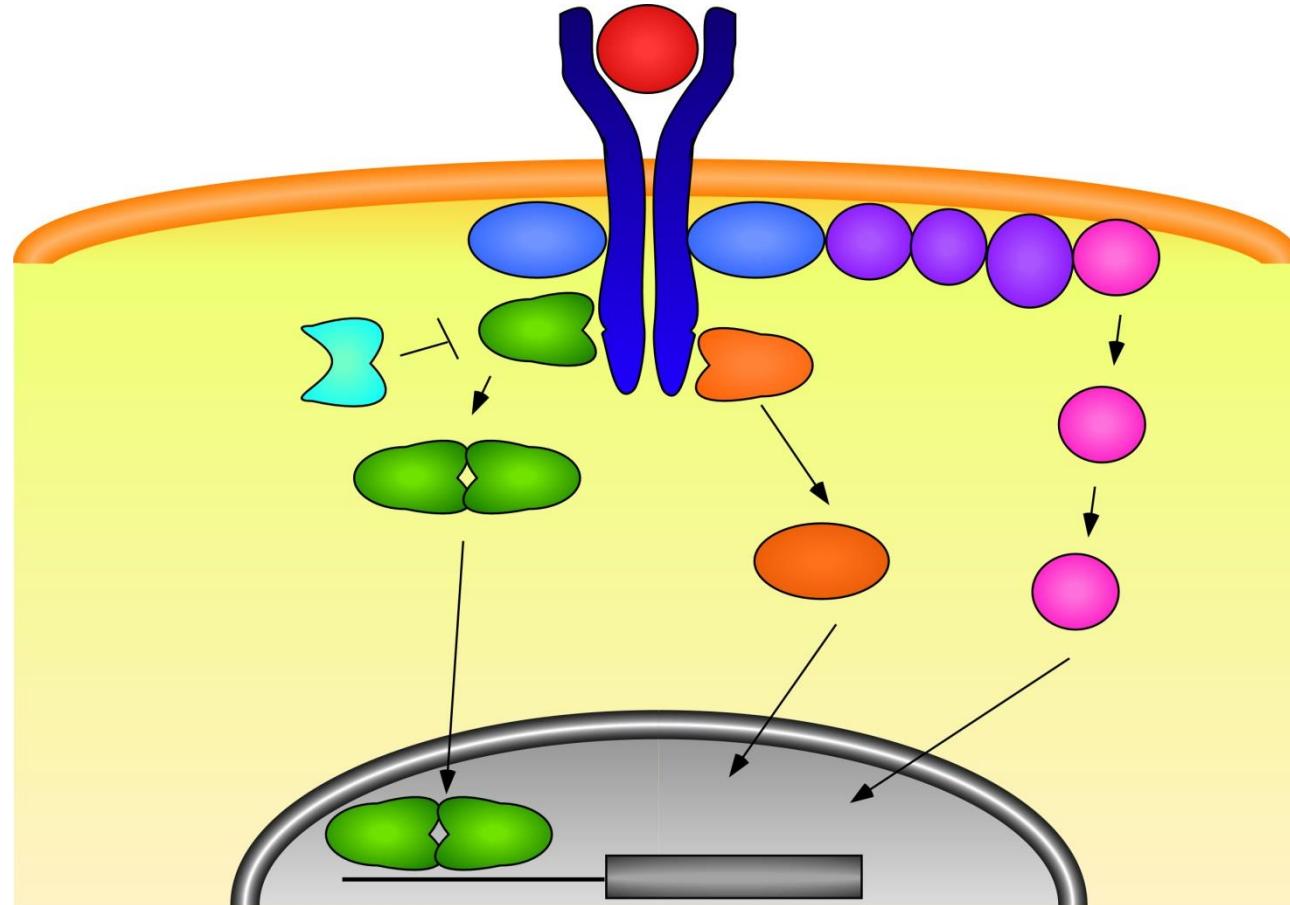
- latente Transkriptionsfaktoren
- nukleäre Translokation
- Induktion von negativen Regulatoren

Signalwege – intrazelluläre Reaktionen



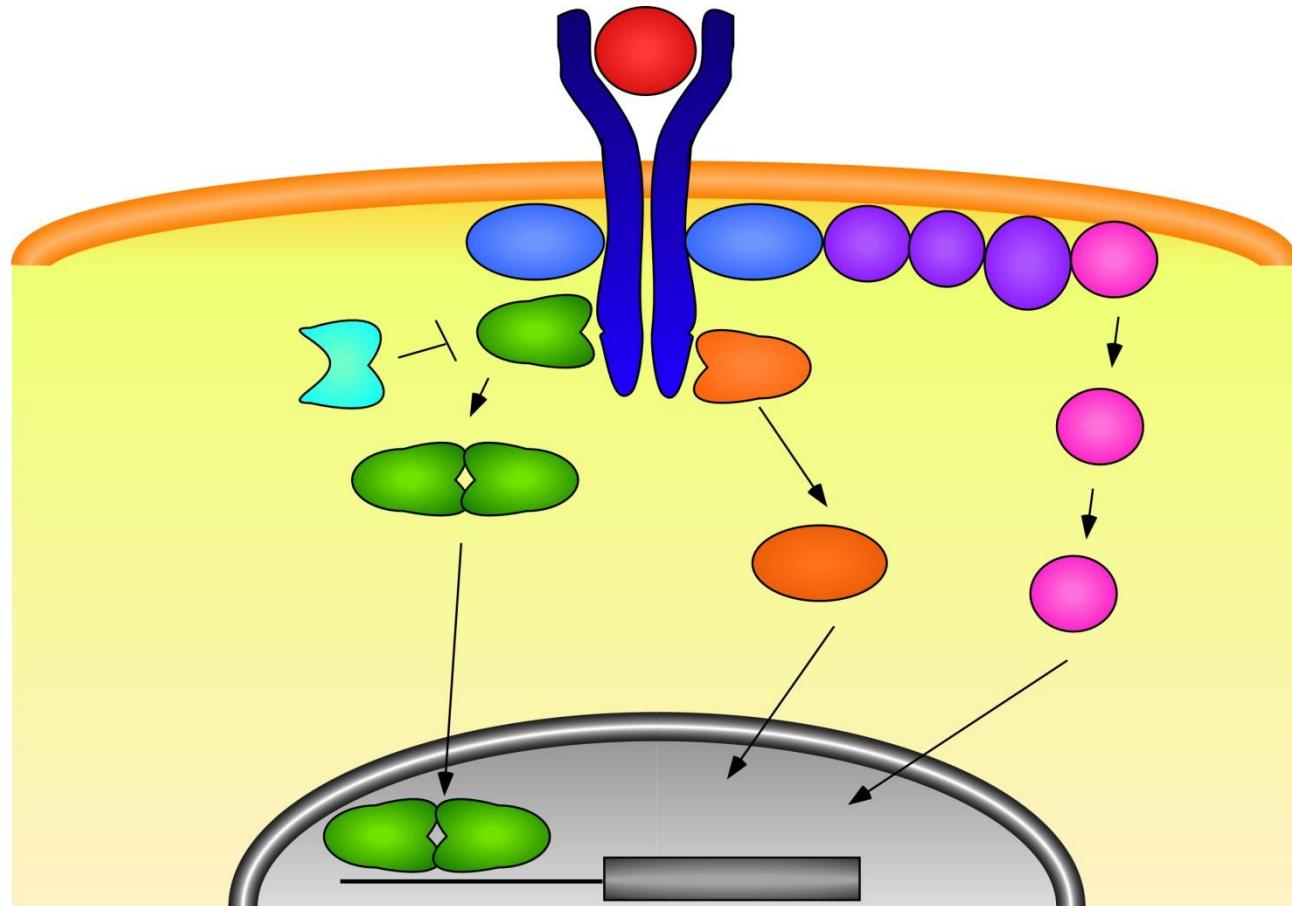
- Phosphorylierung von Lipiden und Proteinen
- Aktivierung durch Proteolyse

Aktivierung multipler Signaltransduktionswege



- Rezeptoren aktivieren begrenzte Anzahl an Signalwegen

Aktivierung multipler Signaltransduktionswege



Spezifität?

Informationsverarbeitung?

Zelluläre Entscheidungen?

PC12 cells

+EGF

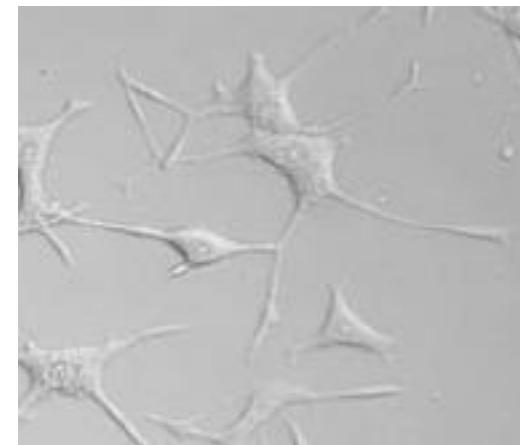
MAPK-Aktivierung



Proliferation

+NGF/FGF

MAPK-Aktivierung



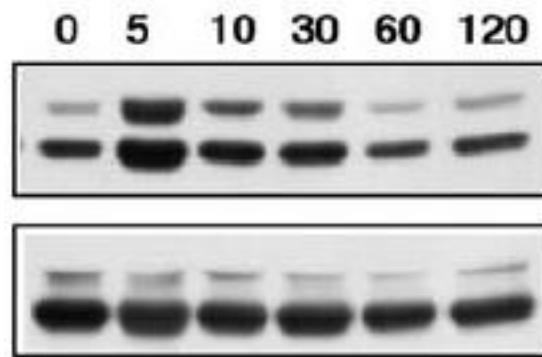
Differenzierung

➤ Gleicher Signalweg, unterschiedliche Antwort

PC12 cells

+EGF

transiente MAPK-Aktivierung



+NGF/FGF

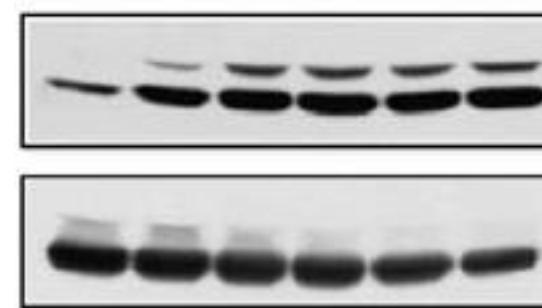
anhaltende MAPK-Aktivierung

Immunoblot

anti-P-ERK

anti-ERK

0 5 10 30 60 120 (min)



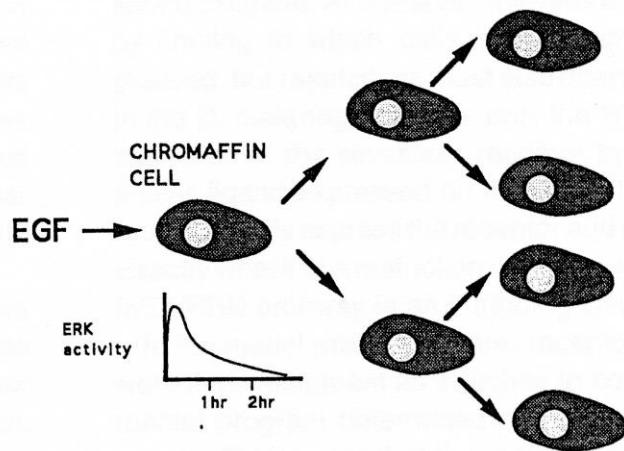
➤ Gleicher Signalweg, unterschiedliche Dynamik

Dynamisches Verhalten – Zelluläre Entscheidungen

PC12 cells

+EGF

transiente MAPK-Aktivierung



Proliferation

➤ Dynamik der Signalwege ist entscheidend

+NGF/FGF

anhaltende MAPK-Aktivierung
Translokation von ERK in den Kern
Induktion von Genexpression

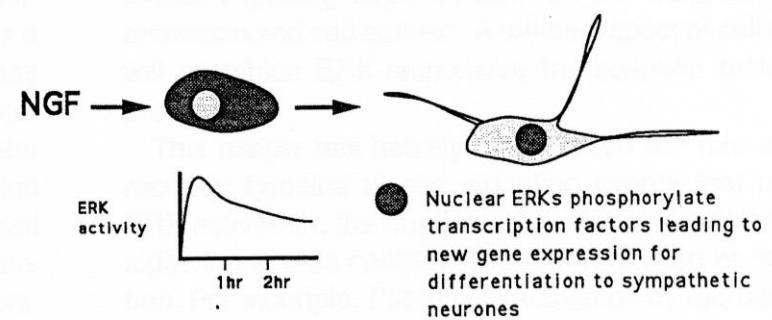
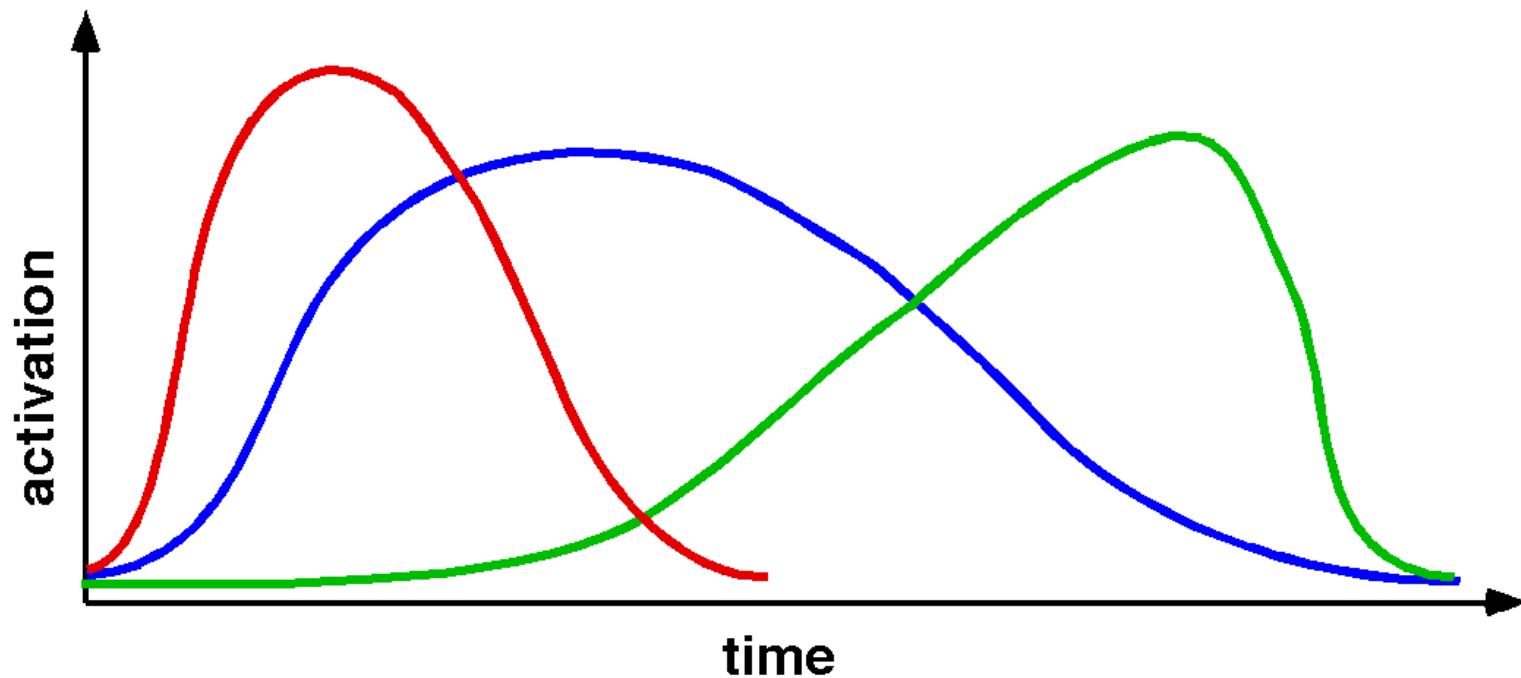


Figure 2. Sustained Activation Leads to Translocation of ERKs and the Induction of New Gene Expression
The relative amount of ERK in the cytoplasm and the nucleus is indicated by the level of stippling.

Differenzierung

- Charakteristische Dynamik
 - Aktivierungszeit
 - Amplitude
 - Länge der Aktivierung
- räumliche Organisation

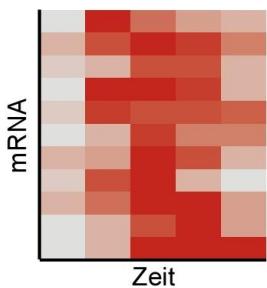


Anaylse dynamischer Systeme mittels mathematischer Modellierung

Gewebe / Zellen

Omics-Daten

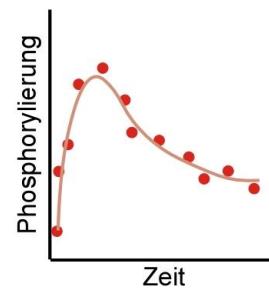
Microarray
Next-generation-sequencing
Massen-Spektrometrie



Zellen

Zeitaufgelöste quantitative Daten

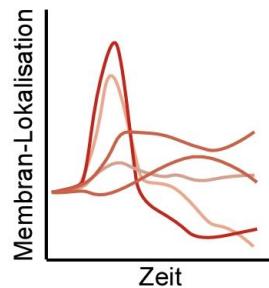
Immunoblotting
Massen-Spektrometrie
Protein-arrays
qRT-PCR



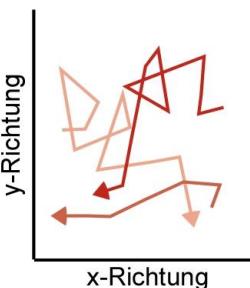
Zellen

Qualitative Daten

Lebendzell-Mikroskopie
FRET
FCS



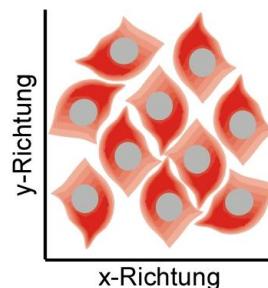
Apoptose-, Proliferations- und Migrationsmessungen



Gewebe

Qualitative Daten

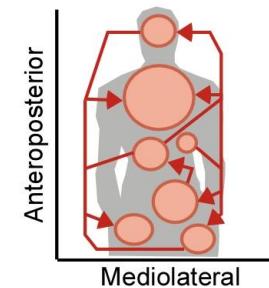
Immunfluoreszenz
Immunhistochemie



Körper

PKPD-Daten

Luminex
Massen-Spektrometrie



mRNA, mikro-RNA
Epigenetische Änderungen

Netzwerk-Modell

Dynamisches Signalwegsmodell

Raumzeitliches Modell

Multiskalen-Modell

Verteilung

PKPD-Modell

Proteine mRNA

Lokalisation

Prozessparameter

Morphologie



→ Frage bestimmt geeignete mathematische Modellierung

Verschiedene Ansätze in der Systembiologie

Top down

Globale Modellierung

Fliessgleichgewicht

Hochdurchsatzdaten

Netzwerkmodelle

Bottom up

Kinetische Modellierung

Zeitreihenanalysen

quantitative Daten
mit geringem Durchsatz

Dynamische Modelle

Netzwerkanalysen

global, quantitativ
dynamisch

Komplexität

Mechanismus

zeitliche Abfolge

Korrelationen

Regressions-
modelle Logische
Modelle Differenzial-
gleichungen

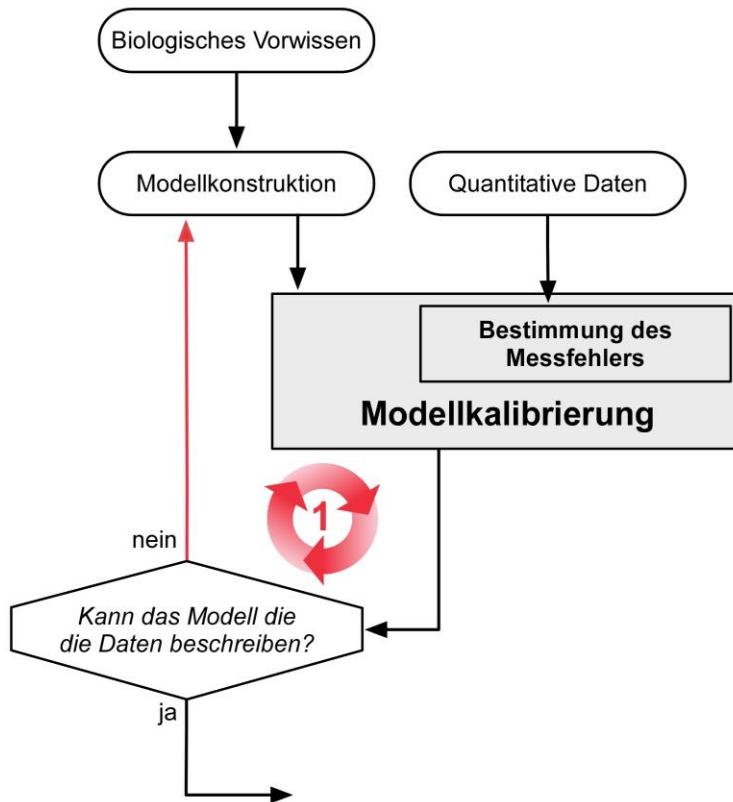
Aufwand

→ Auswahl entsprechend der biologischen Fragestellung

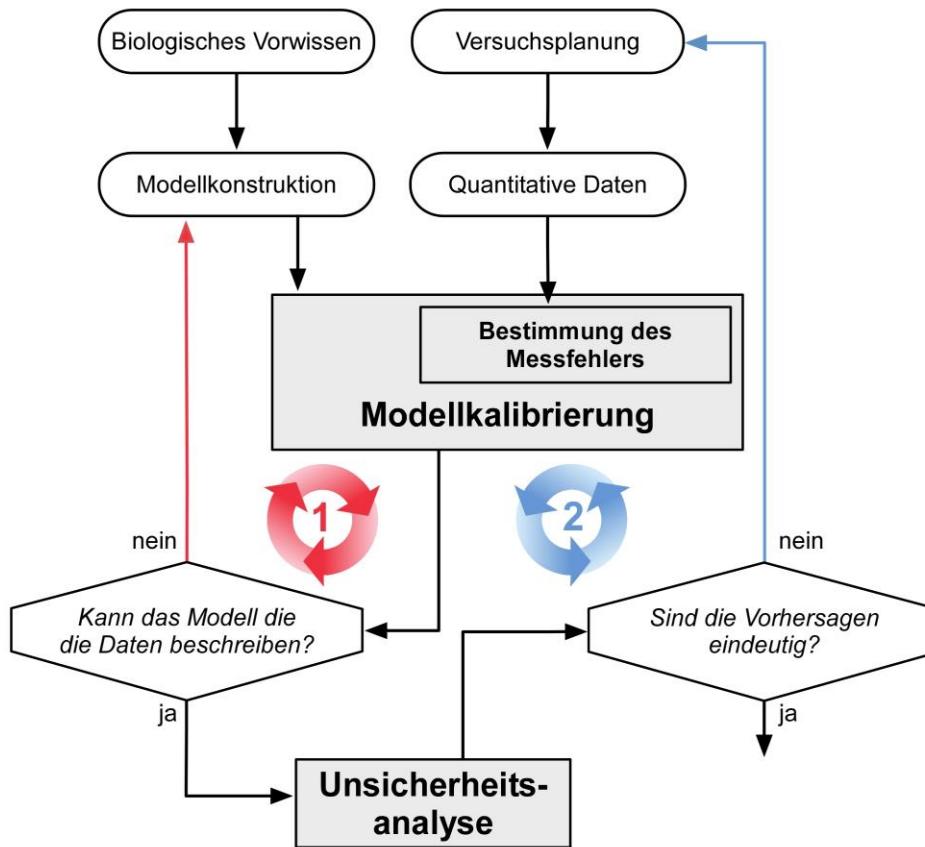
Quantitative dynamische Modellierung



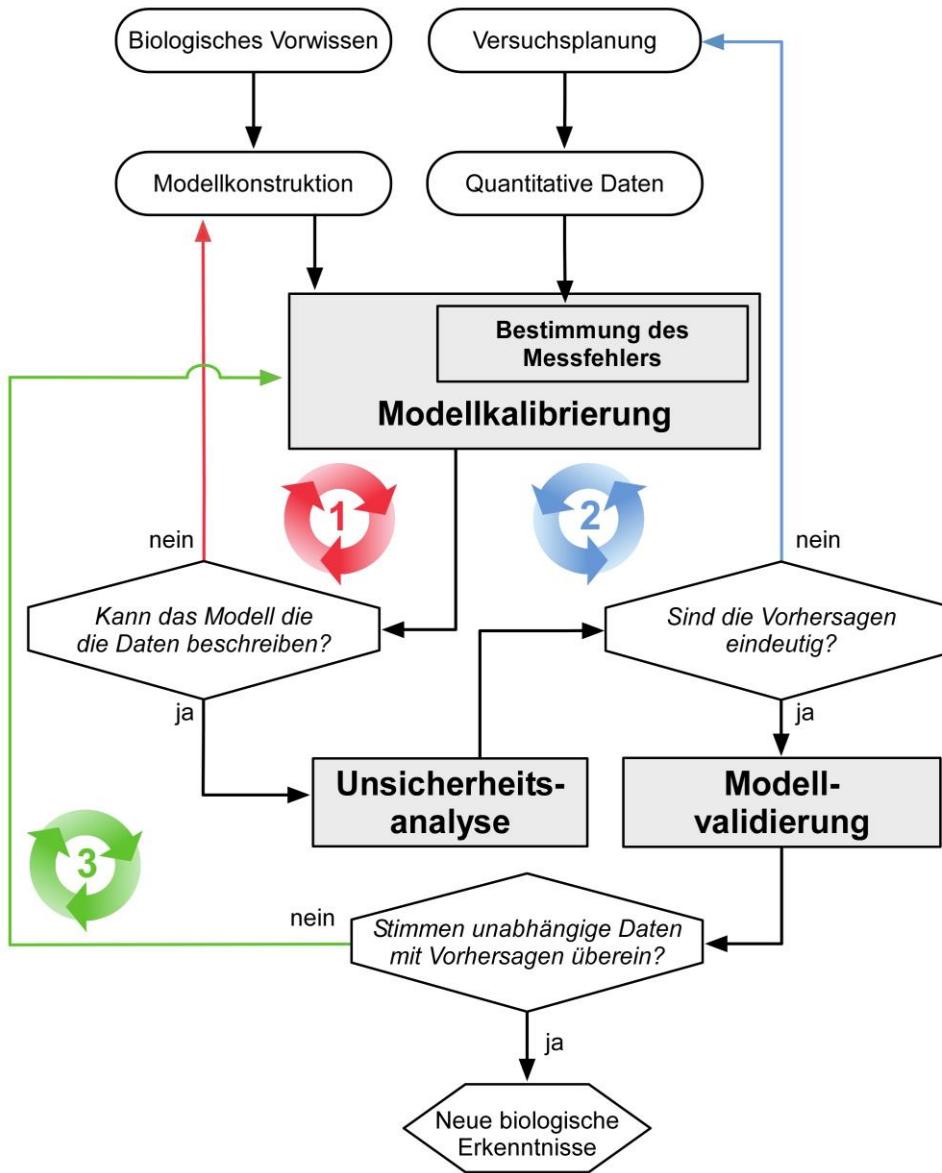
Quantitative dynamische Modellierung



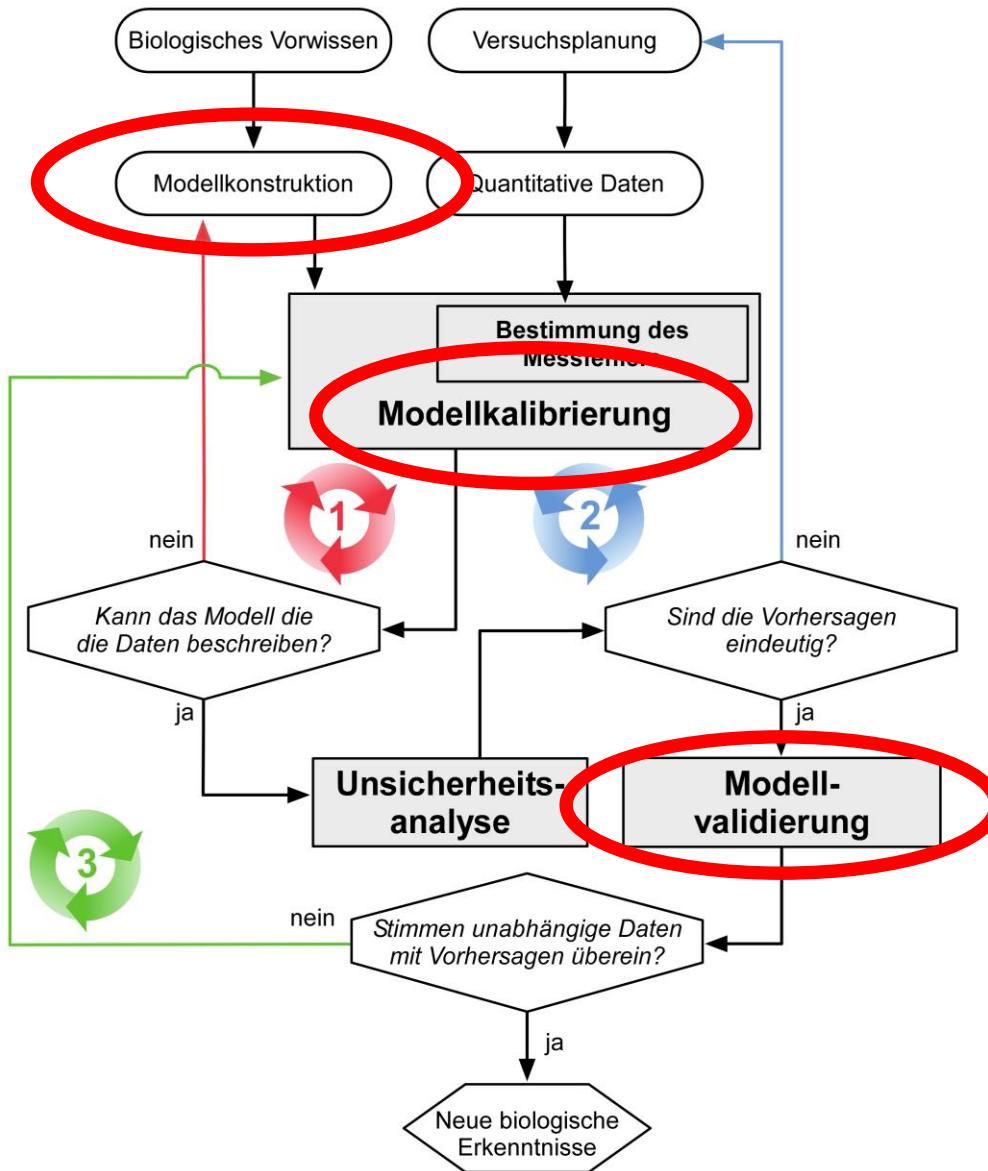
Quantitative dynamische Modellierung



Quantitative dynamische Modellierung



Quantitative dynamische Modellierung



Beispiel für quantitative dynamische Modellierung:

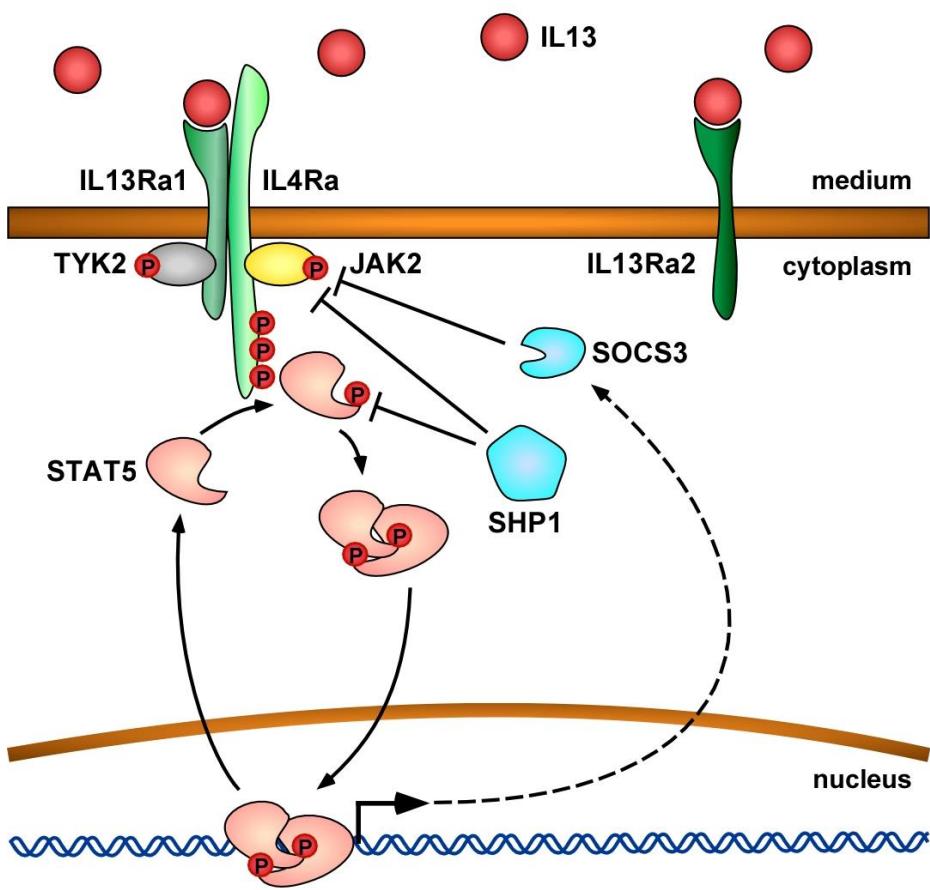
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg

Raia V, Schilling M, Böhm M, Hahn B, Kowarsch A, Raue A, Sticht C, Bohl S, Saile M, Möller P, Gretz N, Timmer J, Theis F, Lehmann WD, Lichter P, Klingmüller U.

Dynamic Mathematical Modeling of IL13-Induced Signaling in Hodgkin and Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma Allows Prediction of Therapeutic Targets.

Cancer Research 2011; 71(3):693-704. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2987>

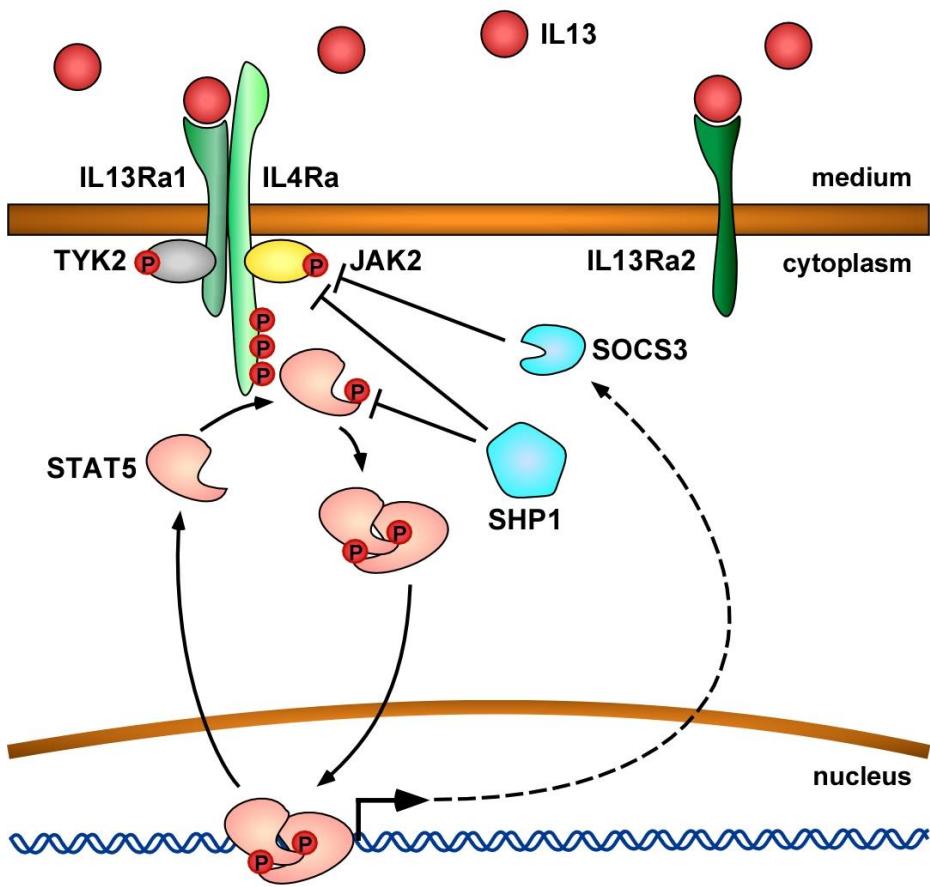
Hämatologisch maligne Krankheiten – Primäres mediastinales B-Zell-Lymphom und Hodgkin-Lymphom



Veränderungen in JAK/STAT-Signalwegen

- Janus-Kinase – Zyttoplasmatische Tyrosinkinase
- **Amplifikation von JAK2**
- STAT – latenter Transkriptionsfaktor
- **Hyperphosphorylierung von STAT5/6**
- **Konstitutive Signalwegsaktivierung**

Hämatologisch maligne Krankheiten – Primäres mediastinales B-Zell-Lymphom und Hodgkin-Lymphom



Veränderungen in JAK/STAT-Signalwegen

- Janus-Kinase – Zyttoplasmatische Tyrosinkinase
- **Amplifikation von JAK2**
- STAT – latenter Transkriptionsfaktor
- **Hyperphosphorylierung von STAT5/6**
- **Konstitutive Signalwegsaktivierung**

Veränderte Sekretion von Zytokinen

- **IL13**
- wird von Zellen des Immunsystems produziert
- Stimuliert Proliferation von aktivierte B-Zellen und das Umschalten der Immunglobulinklassen
- Aktiviert den JAK/STAT-Signalweg
- **Wird durch Hodgkin und Reed-Sternberg-Zellen sekretiert**

Hodgkin-Lymphom: L1236-Zelllinie

- Wachstum durch autokrines IL13
- Biallelische Deletion des SOCS1-Gens
- Amplifikation des STAT6-Genlokus

Primäres mediastiniales B-Zell-Lymphom: MedB-1-Zelllinie

- Biallelische Funktionsverlust-Mutationen im SOCS1-Gen
- Trisomie von Chromosom 9 (*JAK2*-Genlokus)

Hodgkin-Lymphom: L1236-Zelllinie

- Wachstum durch autokrines IL13
- Biallelische Deletion des SOCS1-Gens
- Amplifikation des STAT6-Genlokus

Primäres mediastiniales B-Zell-Lymphom: MedB-1-Zelllinie

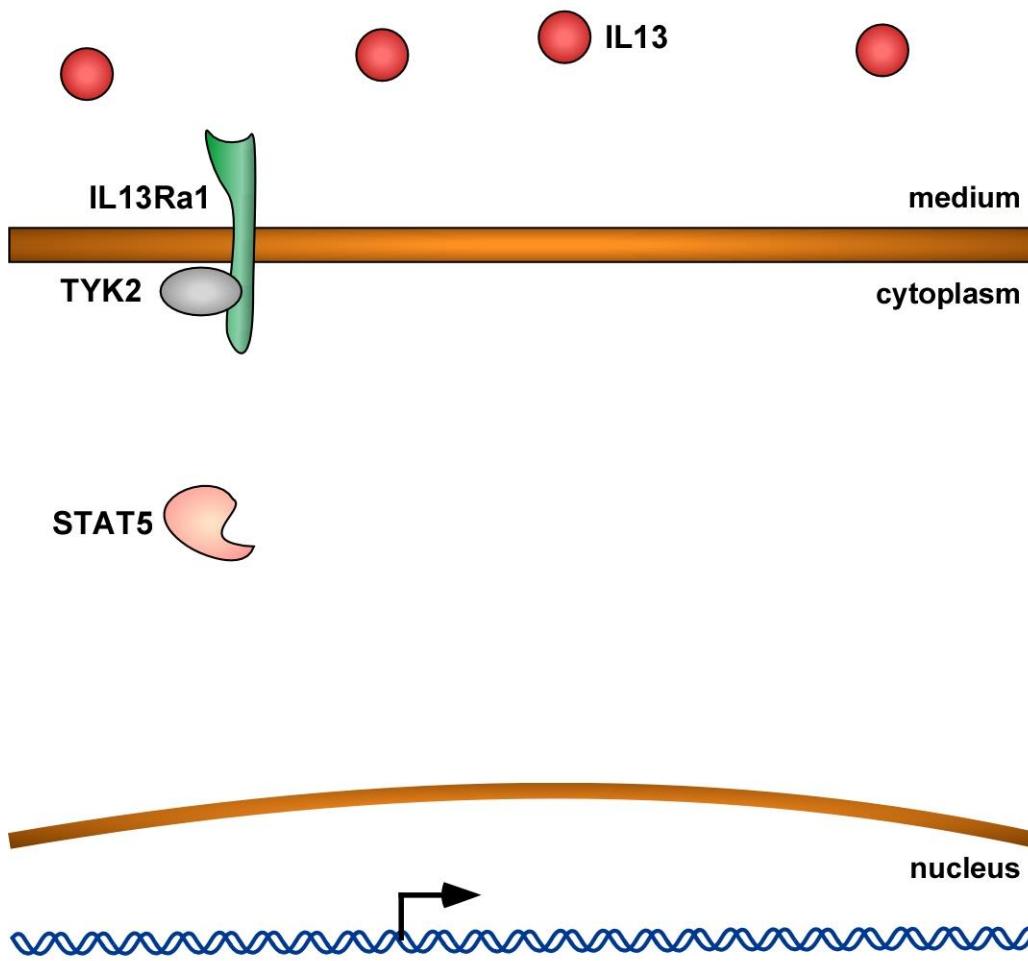
- Biallelische Funktionsverlust-Mutationen im SOCS1-Gen
- Trisomie von Chromosom 9 (JAK2-Genlokus)

Biologische Fragestellung:

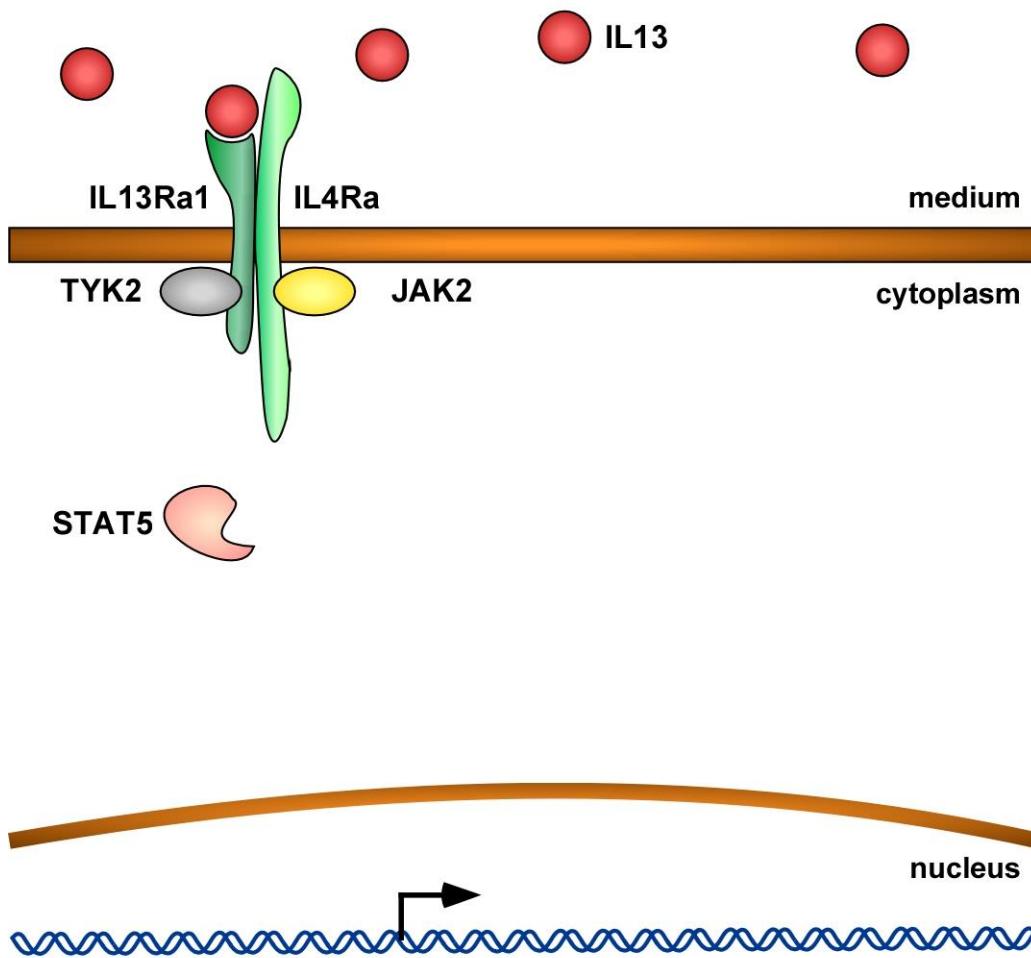
Wie läuft die Informationsverarbeitung in diesen Zelllinien ab?

Welcher Prozess kann inhibiert werden, um die IL13-abhängige Aktivierung zu stören?

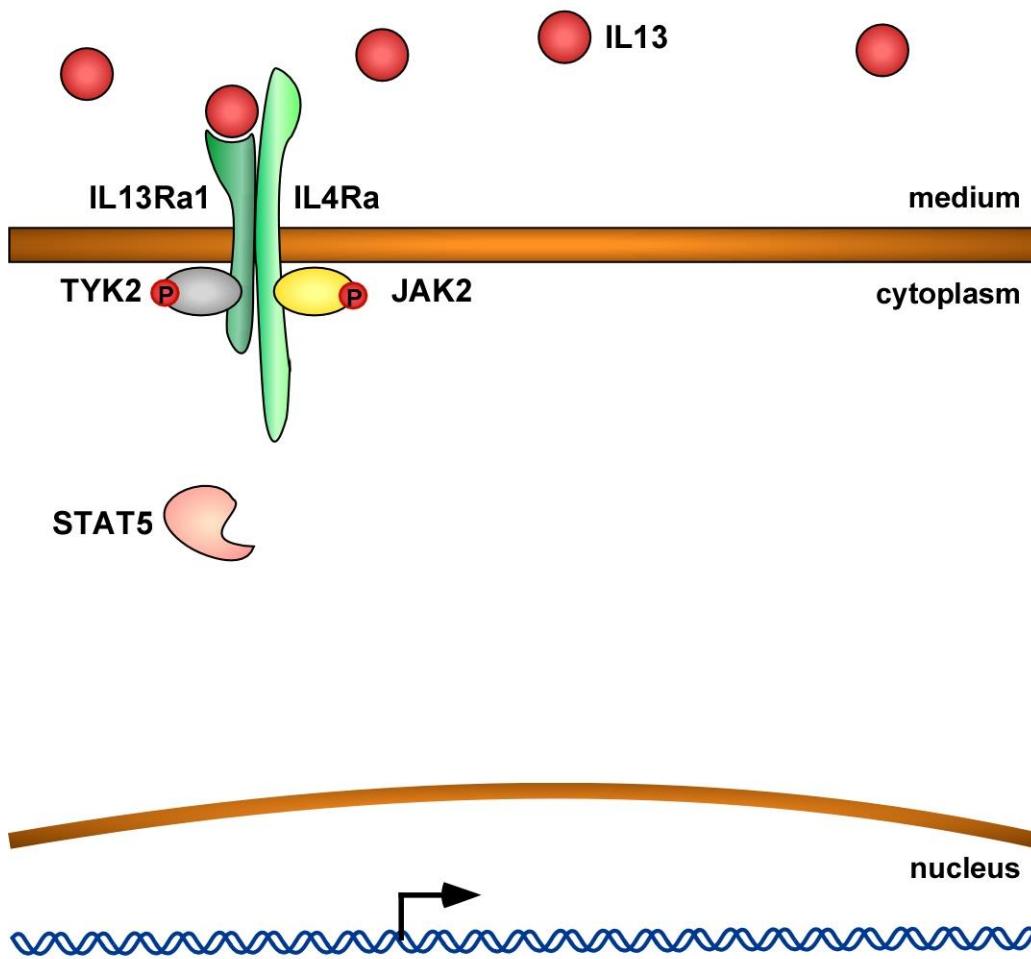
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



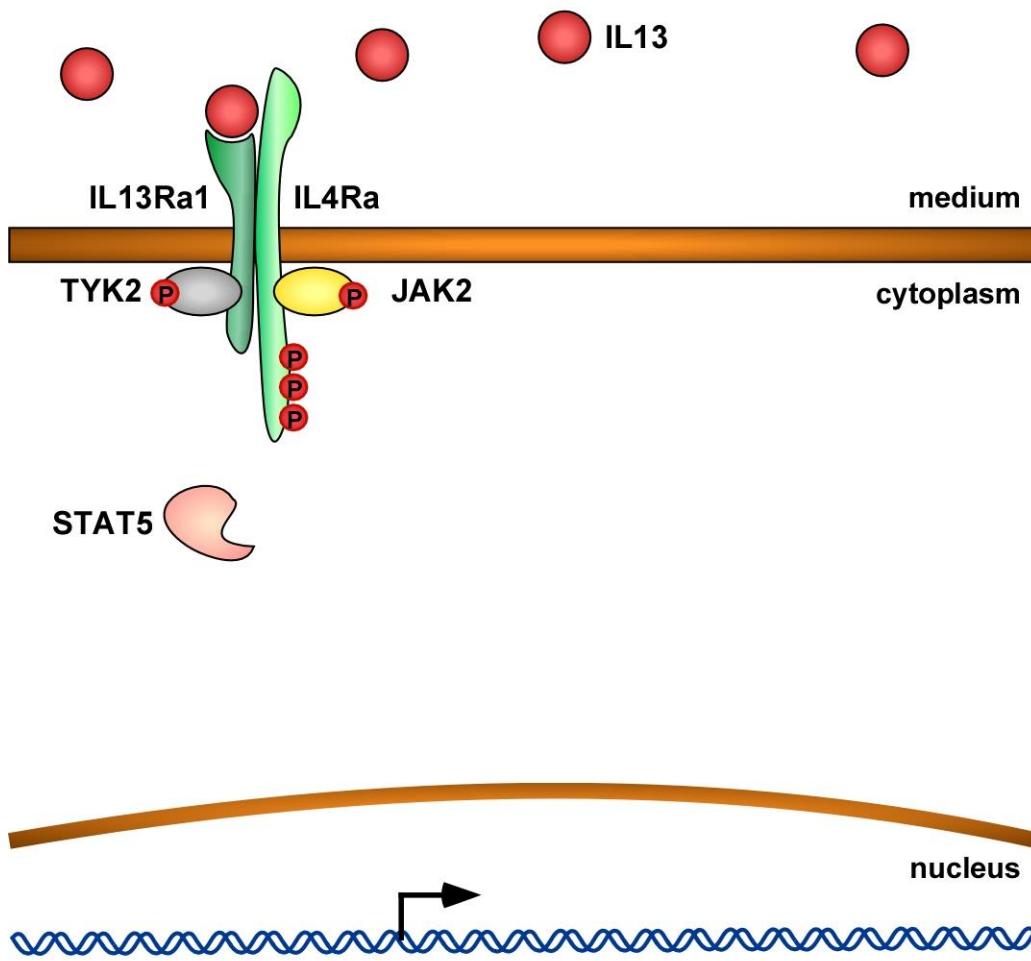
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



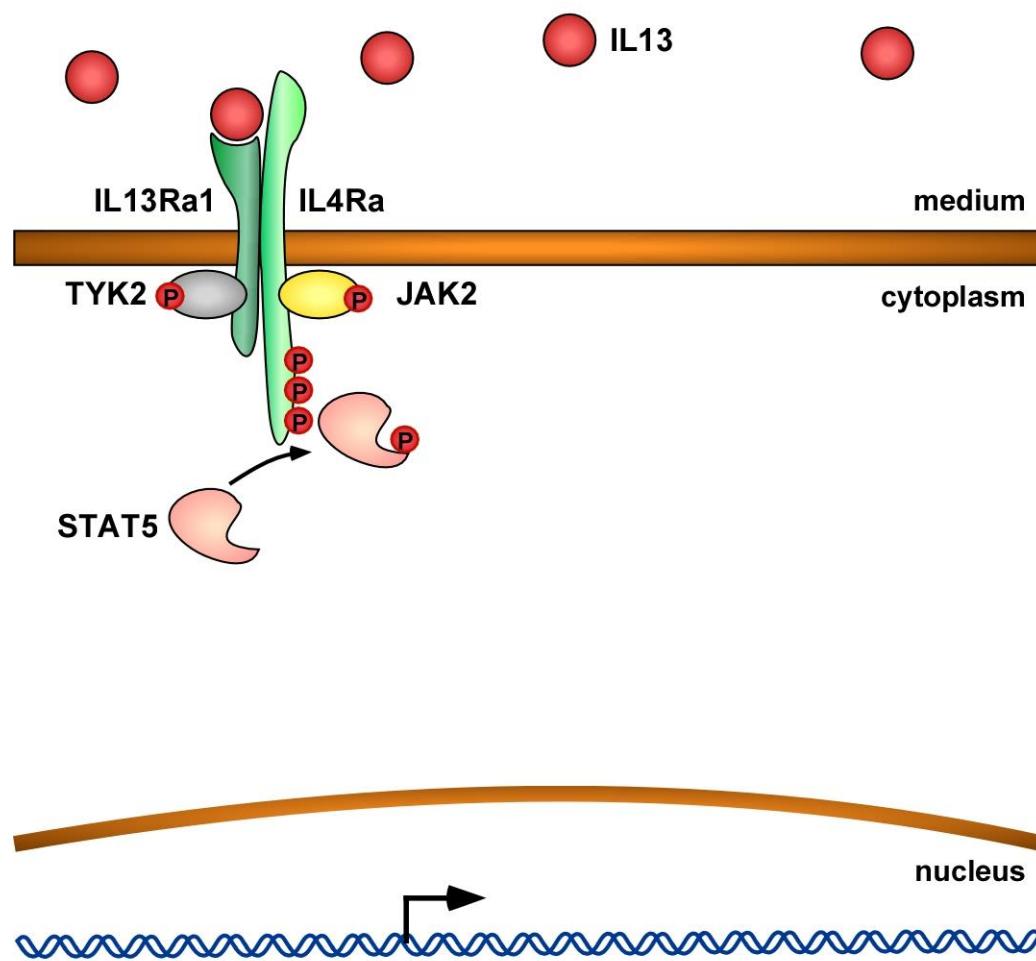
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



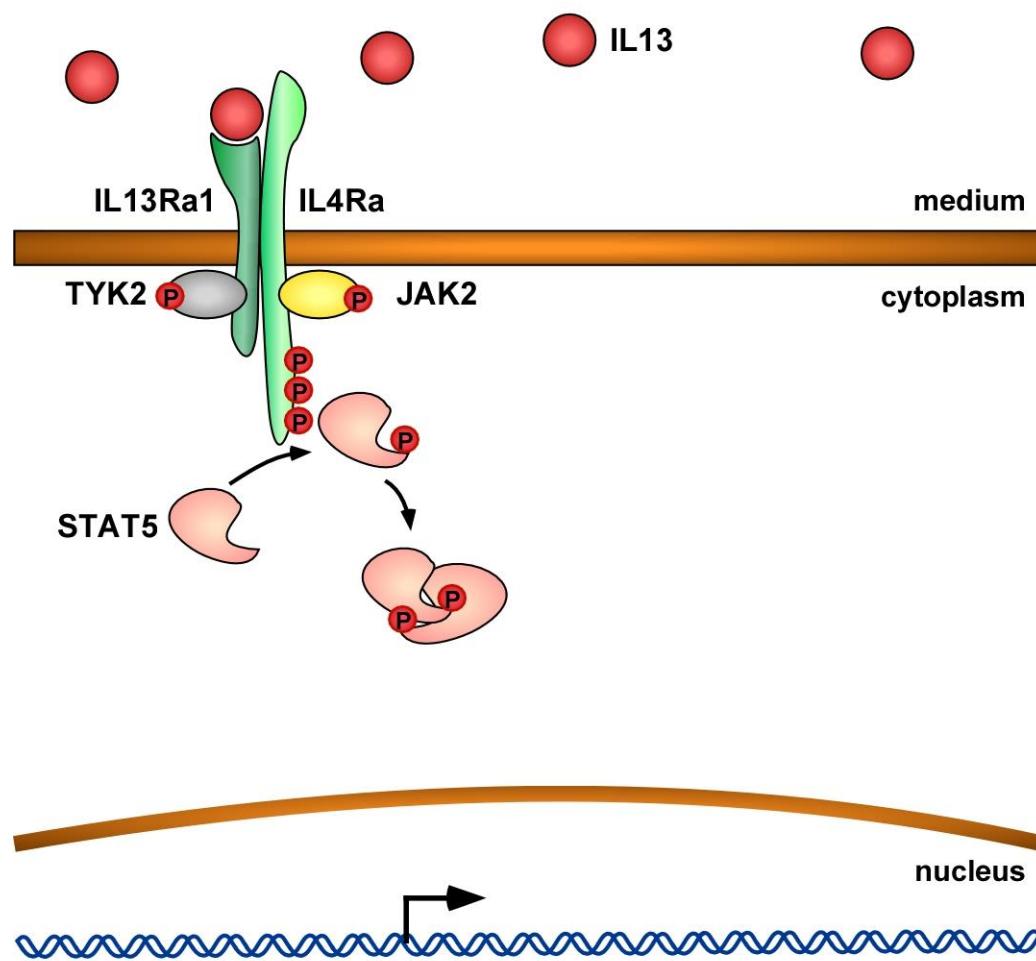
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



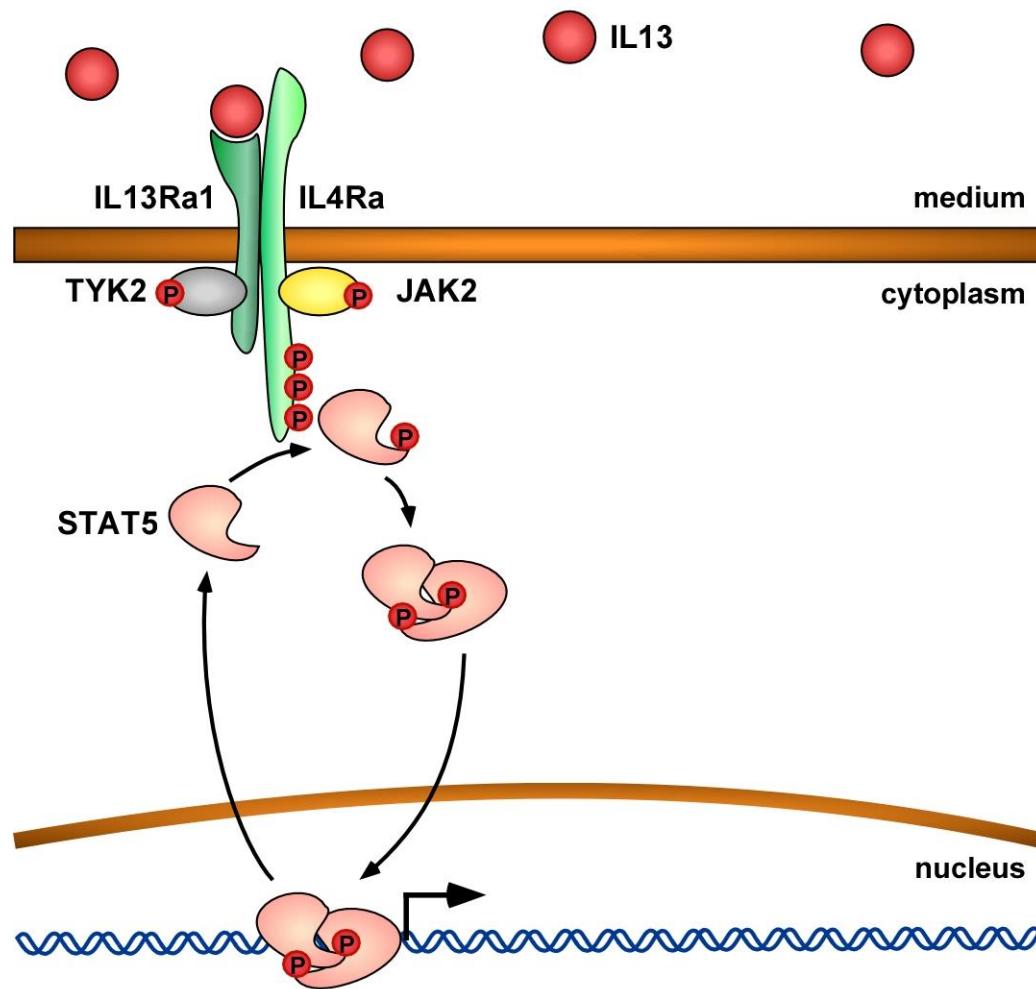
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



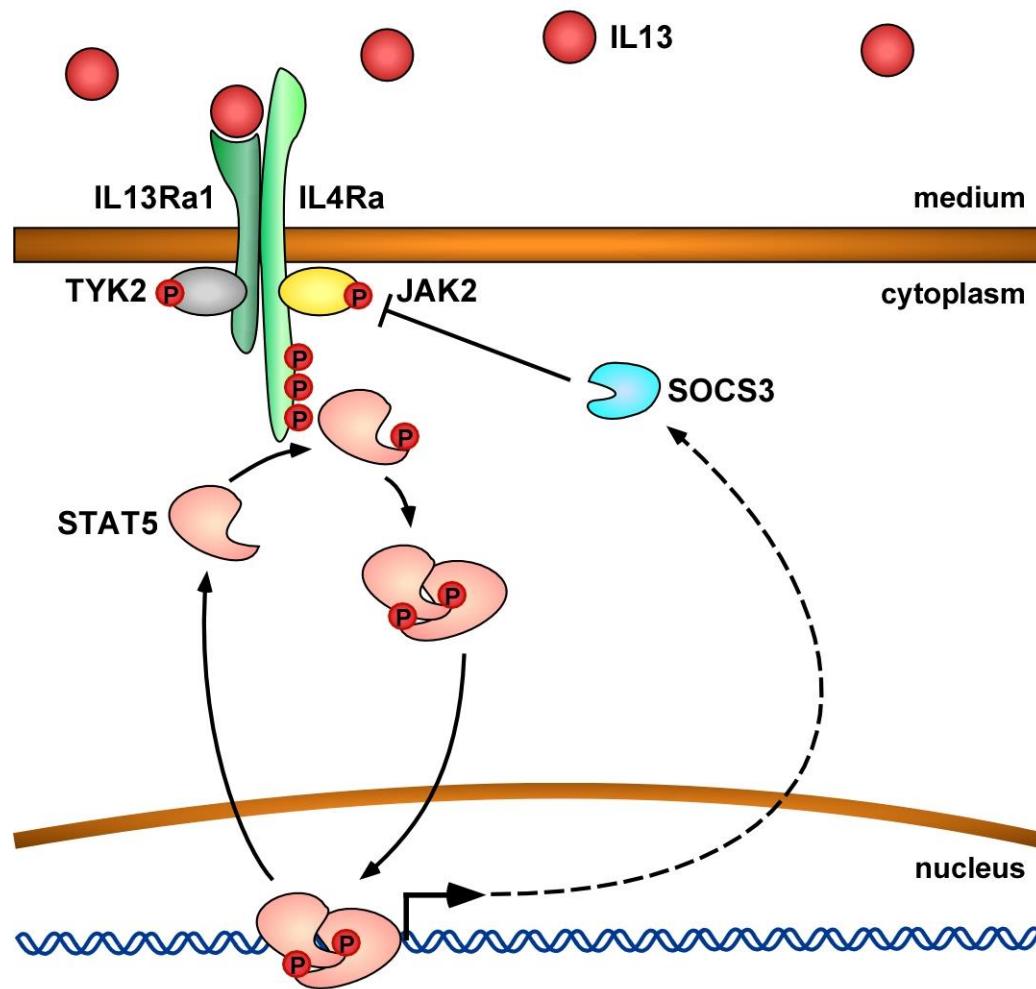
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



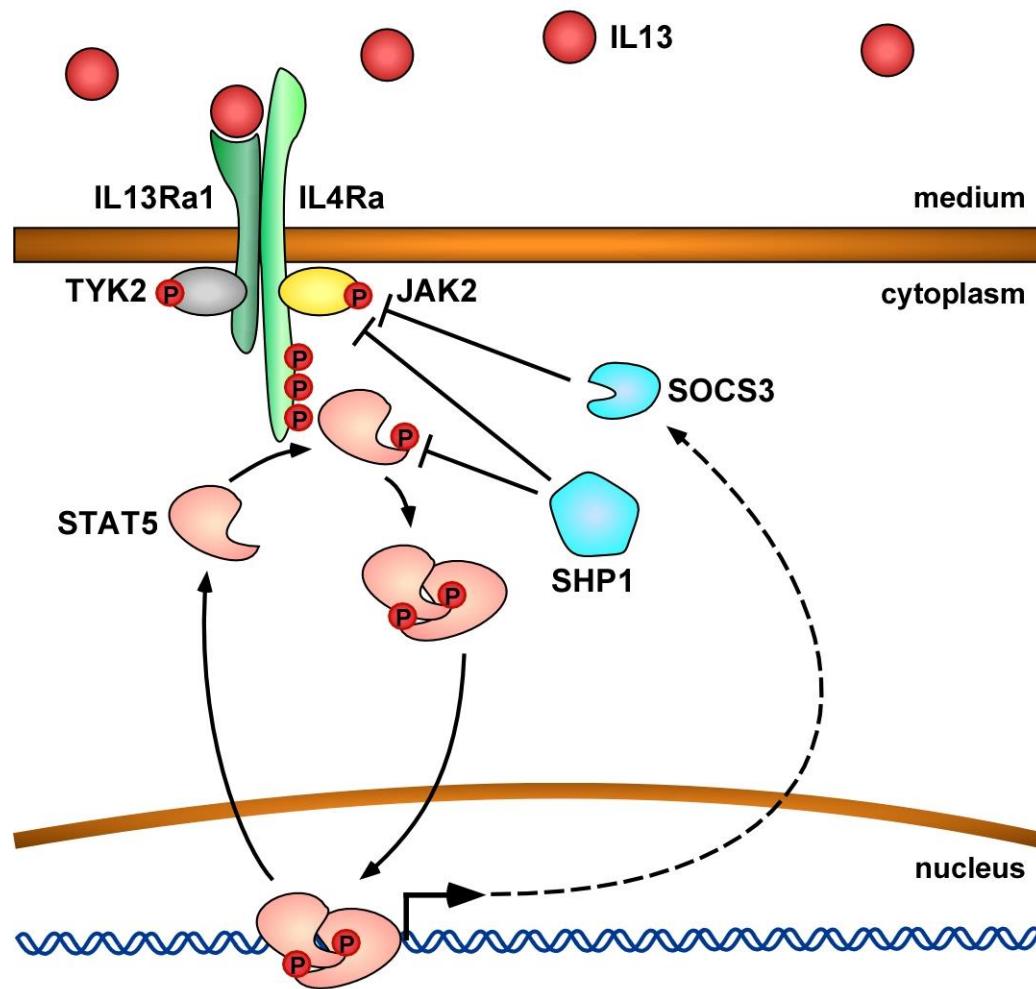
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



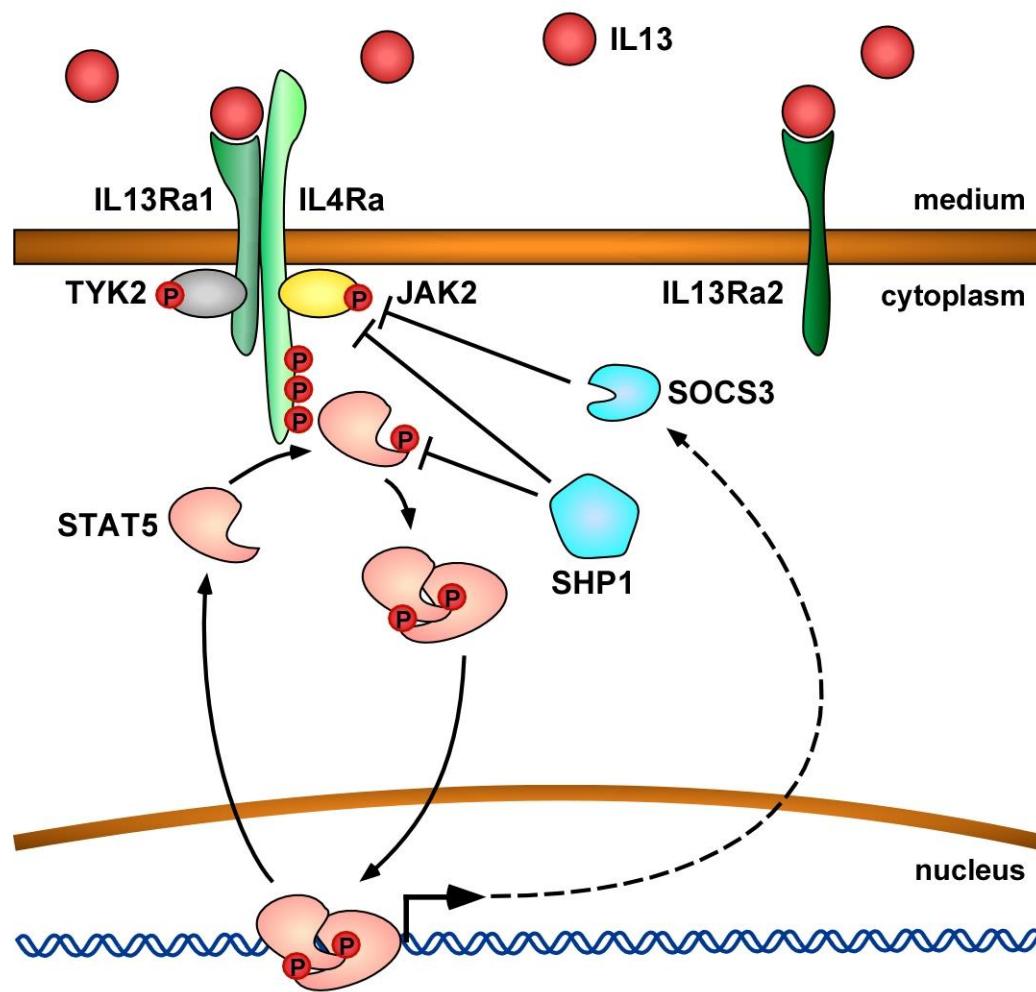
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



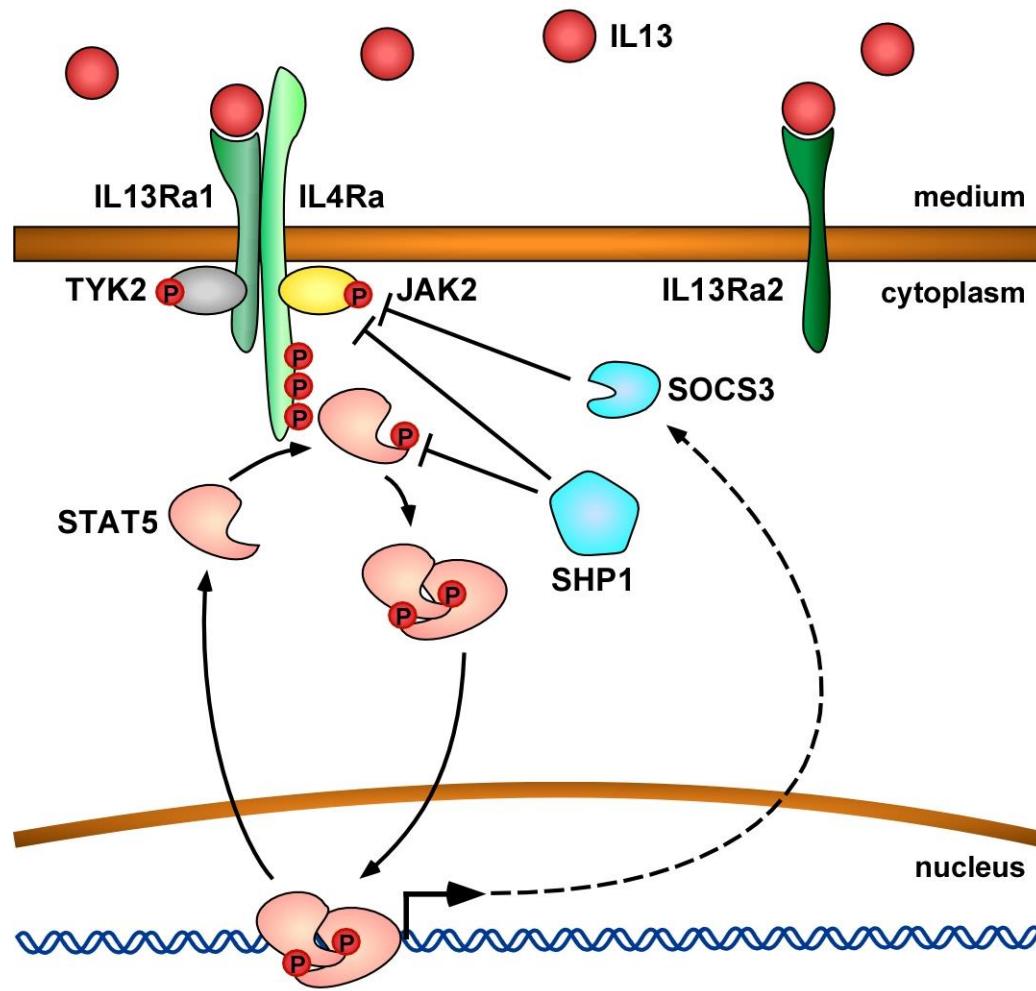
Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



Wie können wir dieses Signalwegsschema in Differentialgleichungen umwandeln?

Massenwirkungsgesetz

Definition des Massenwirkungsgesetzes:

Massenwirkungsgesetz

Definition des Massenwirkungsgesetzes:

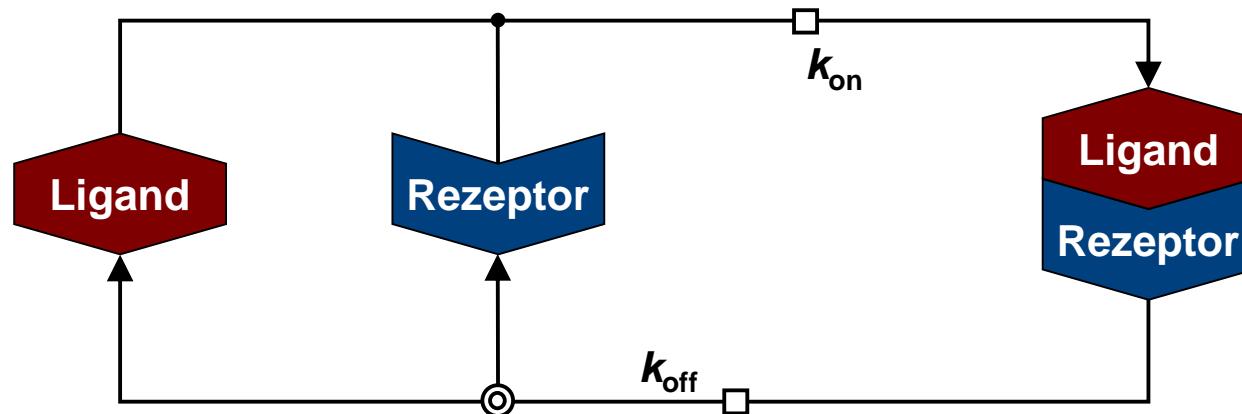
Die Geschwindigkeitsrate einer gegebenen chemischen Reaktion ist proportional zum Produkt der Aktivitäten (oder Konzentrationen) der Reaktionspartner.

Massenwirkungsgesetz

Bsp: Liganden-Rezeptor-Bindung

Annahmen:

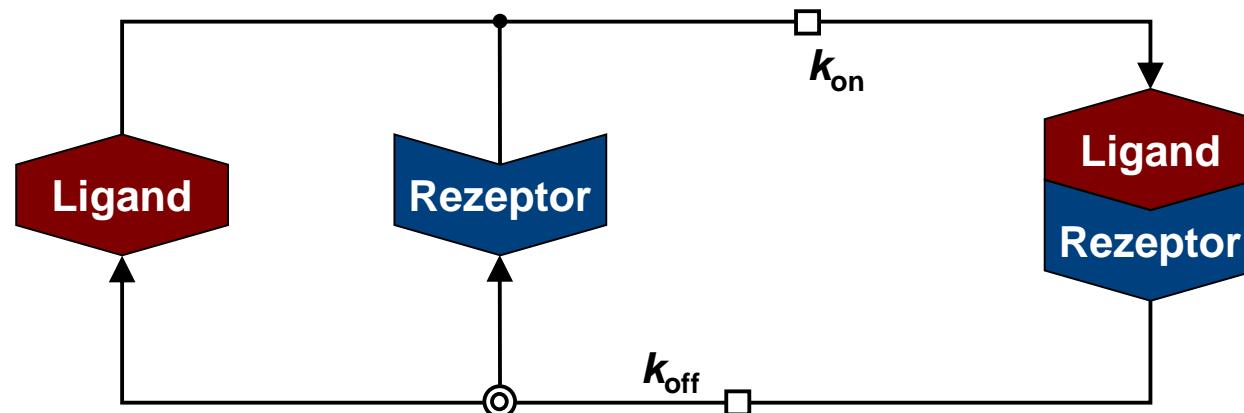
- Alle Rezeptoren sind gleichermassen zugänglich für den Liganden
- Rezeptoren sind entweder frei oder ligandengebunden.
Mehrere Affinitätszustände oder partielle Bindungen sind nicht erlaubt.
- Die Bindung verändert weder Ligand noch Rezeptor.
- Die Bindung ist reversibel.



Massenwirkungsgesetz

Bindung findet statt, wenn Ligand und Rezeptor durch Diffusion kollidieren, und wenn die Kollision die richtige Orientierung und genug Energie aufweist. Die Assoziationsrate ist definiert als :

Anzahl Bindungsereignisse pro Zeiteinheit = $k_{on} \cdot [Ligand] \cdot [Rezeptor]$



eckige Klammern bezeichnen Konzentrationen

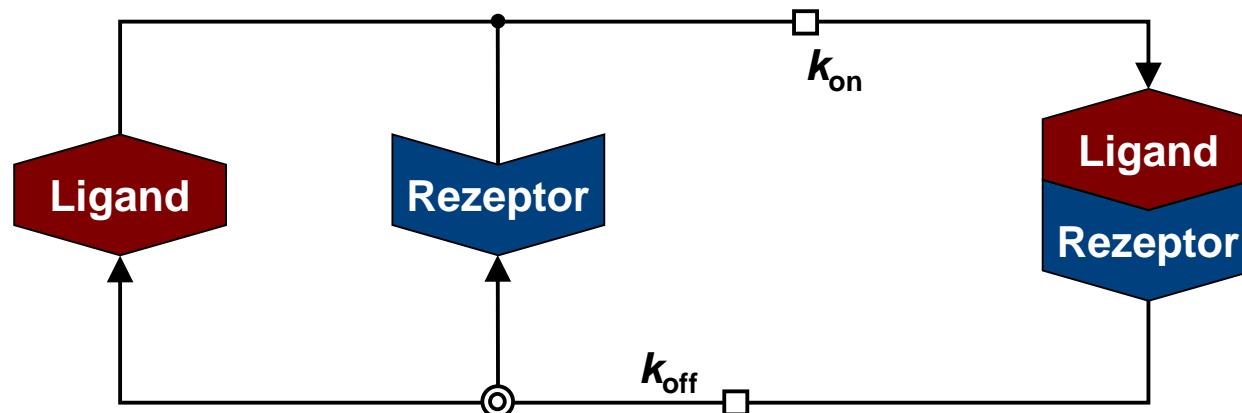
Massenwirkungsgesetz

Bindung findet statt, wenn Ligand und Rezeptor durch Diffusion kollidieren, und wenn die Kollision die richtige Orientierung und genug Energie aufweist. Die Assoziationsrate ist definiert als :

Anzahl Bindungsereignisse pro Zeiteinheit = $k_{on} \cdot [Ligand] \cdot [Rezeptor]$

Nachdem die Bindung stattgefunden hat, bleibt der Ligand an den Rezeptor für eine zufällige Zeitspanne gebunden. Die Dissoziation ist für jeden Zeitpunkt gleich wahrscheinlich. Der Rezeptor "weiss" also nicht, wie lange der Ligand gebunden ist. Die Dissoziationsrate ist definiert als:

Anzahl Dissoziationsereignisse pro Zeiteinheit = $k_{off} \cdot [Ligand_Rezeptor]$



eckige Klammern bezeichnen Konzentrationen

Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Die Assoziationsrate ist definiert als:

Anzahl Bindungsergebnisse pro Zeiteinheit = $k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$

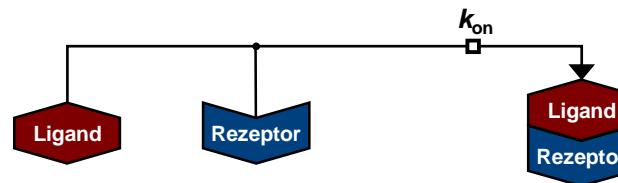
Die Dissoziationsrate ist definiert als:

Anzahl Dissoziationsereignisse pro Zeiteinheit = $k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$

Eine Differenzialgleichung beschreibt die Änderung einer Konzentration pro Zeiteinheit:

$d[x]/dt$

Wir wollen uns erst auf die Assoziationsreaktion beschränken und die Differenzialgleichung für den Ligand_Rezeptor-Komplex aufstellen:



Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Die Assoziationsrate ist definiert als:

$$\text{Anzahl Bindungsergebnisse pro Zeiteinheit} = k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$$

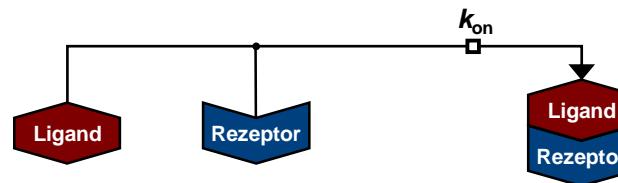
Die Dissoziationsrate ist definiert als:

$$\text{Anzahl Dissoziationsereignisse pro Zeiteinheit} = k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$$

Eine Differenzialgleichung beschreibt die Änderung einer Konzentration pro Zeiteinheit:

$$d[x]/dt$$

Wir wollen uns erst auf die Assoziationsreaktion beschränken und die Differenzialgleichung für den Ligand_Rezeptor-Komplex aufstellen:



$$d[\text{Ligand_Rezeptor}]/dt = k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$$

Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Die Assoziationsrate ist definiert als:

Anzahl Bindungsergebnisse pro Zeiteinheit = $k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$

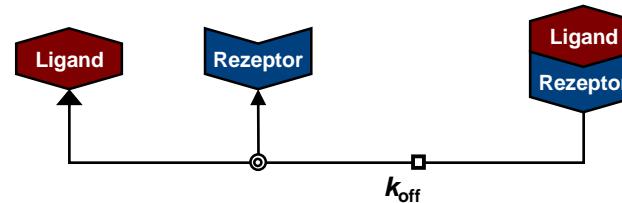
Die Dissoziationsrate ist definiert als:

Anzahl Dissoziationsereignisse pro Zeiteinheit = $k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$

Eine Differenzialgleichung beschreibt die Änderung einer Konzentration pro Zeiteinheit:

$d[x]/dt$

Ebenso die Differenzialgleichung für die Dissoziationsreaktion:



Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Die Assoziationsrate ist definiert als:

$$\text{Anzahl Bindungsergebnisse pro Zeiteinheit} = k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$$

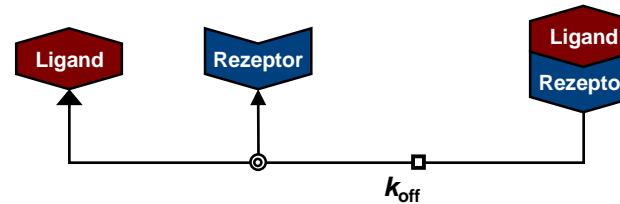
Die Dissoziationsrate ist definiert als:

$$\text{Anzahl Dissoziationsereignisse pro Zeiteinheit} = k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$$

Eine Differenzialgleichung beschreibt die Änderung einer Konzentration pro Zeiteinheit:

$$d[x]/dt$$

Ebenso die Differenzialgleichung für die Dissoziationsreaktion:



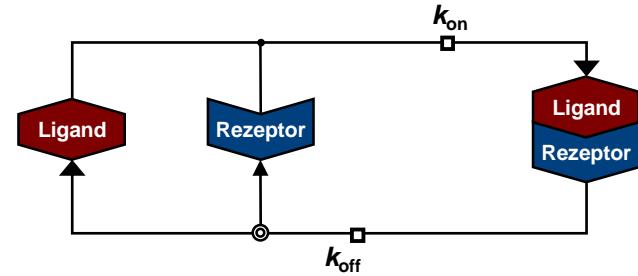
$$d[\text{Ligand_Rezeptor}]/dt = -k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$$

Das Vorzeichen ist hier negativ, da bei jedem Dissoziationsereignis die Anzahl der Ligand-Rezeptor-Komplexe vermindert wird (Verlustterm).

Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

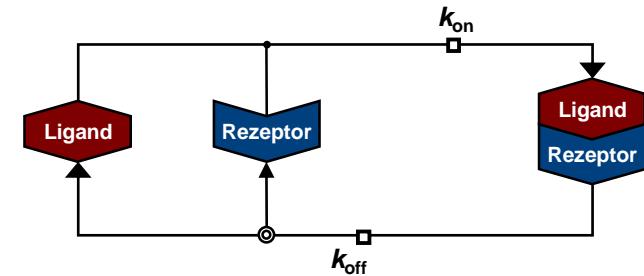
Wir können jetzt die vollständige Differenzialgleichung für den Ligand_Rezeptor-Komplex aufstellen. Dazu berücksichtigen wir sowohl Assoziation als auch Dissoziation:



Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Wir können jetzt die vollständige Differenzialgleichung für den Ligand_Rezeptor-Komplex aufstellen. Dazu berücksichtigen wir sowohl Assoziation als auch Dissoziation:

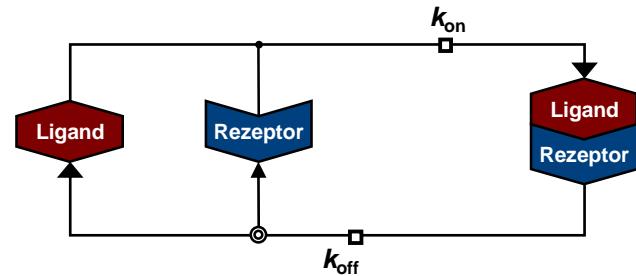


$$\frac{d[\text{Ligand_Rezeptor}]}{dt} = \underbrace{k_{on} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]}_{\text{Zuwachsterm}} - \underbrace{k_{off} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]}_{\text{Verlustterm}}$$

Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Nun können wir analog auch die Differenzialgleichungen für das Verhalten von Ligand und Rezeptor aufstellen:

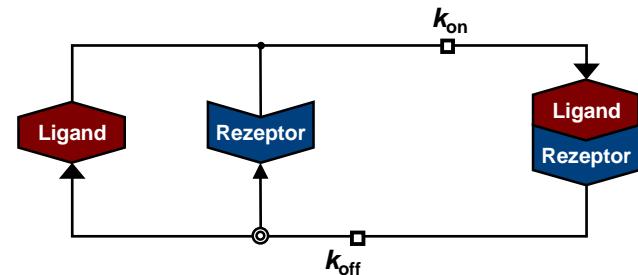


$$\frac{d[\text{Ligand_Rezeptor}]}{dt} = k_{on} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}] - k_{off} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$$

Massenwirkungsgesetz

Vom Massenwirkungsgesetz zu Differenzialgleichungen

Nun können wir analog auch die Differenzialgleichungen für das Verhalten von Ligand und Rezeptor aufstellen:



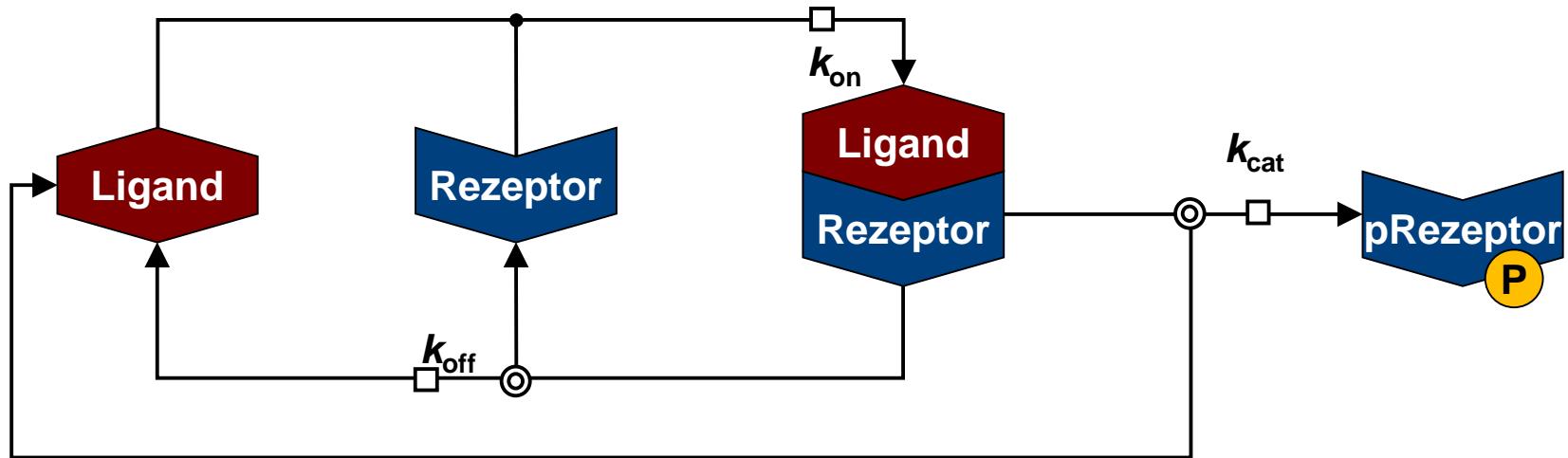
$$\frac{d[\text{Ligand_Rezeptor}]}{dt} = k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}] - k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]$$

$$\frac{d[\text{Ligand}]}{dt} = k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}] - k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$$

$$\frac{d[\text{Rezeptor}]}{dt} = \underbrace{k_{\text{off}} \cdot [\text{Ligand_Rezeptor}]}_{\text{Zuwachsterm}} - \underbrace{k_{\text{on}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]}_{\text{Verlustterm}}$$

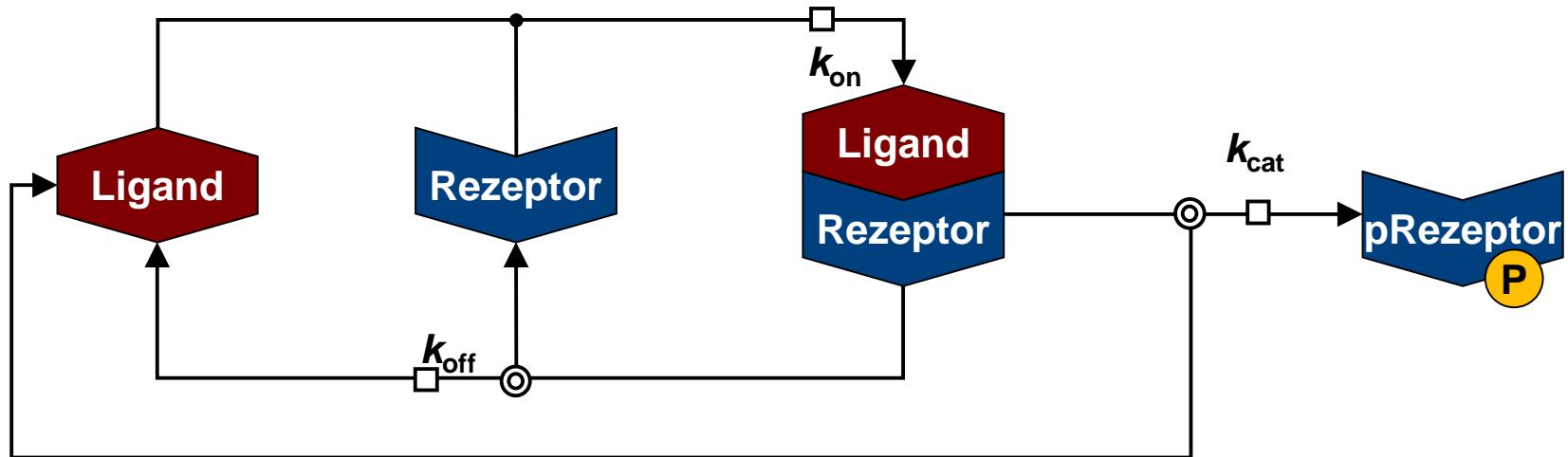
Enzymatische Reaktionen

Nehmen wir an, der Rezeptor wird phosphoryliert und der Ligand dissoziert (enzymatische Reaktion):

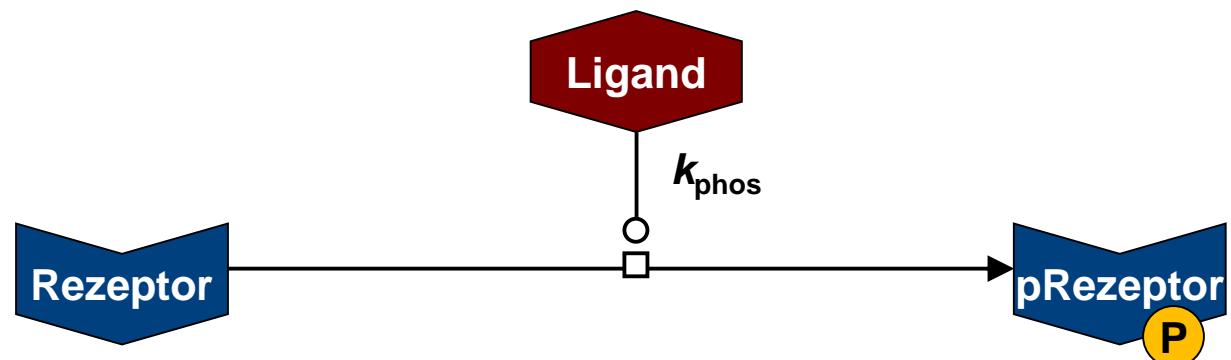


Enzymatische Reaktionen

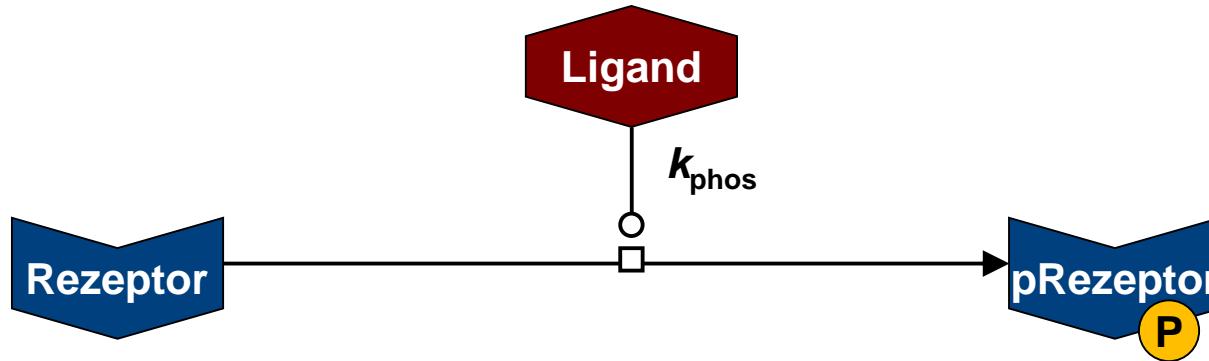
Nehmen wir an, der Rezeptor wird phosphoryliert und der Ligand dissoziert (enzymatische Reaktion):



Falls $[Ligand_Rezeptor]$ vernachlässigbar klein ist, können wir diese Reaktion vereinfachen (lineare Approximation der Michaelis-Menten-Gleichung):



Enzymatische Reaktionen



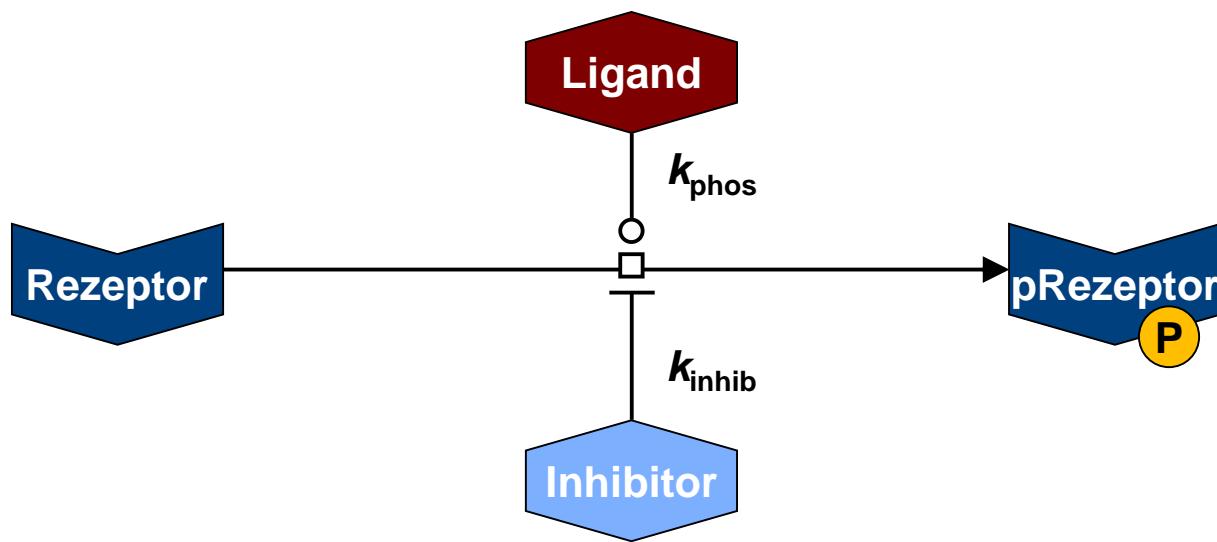
Nun erhalten wir:

$$\frac{d[\text{Ligand}]}{dt} = 0$$

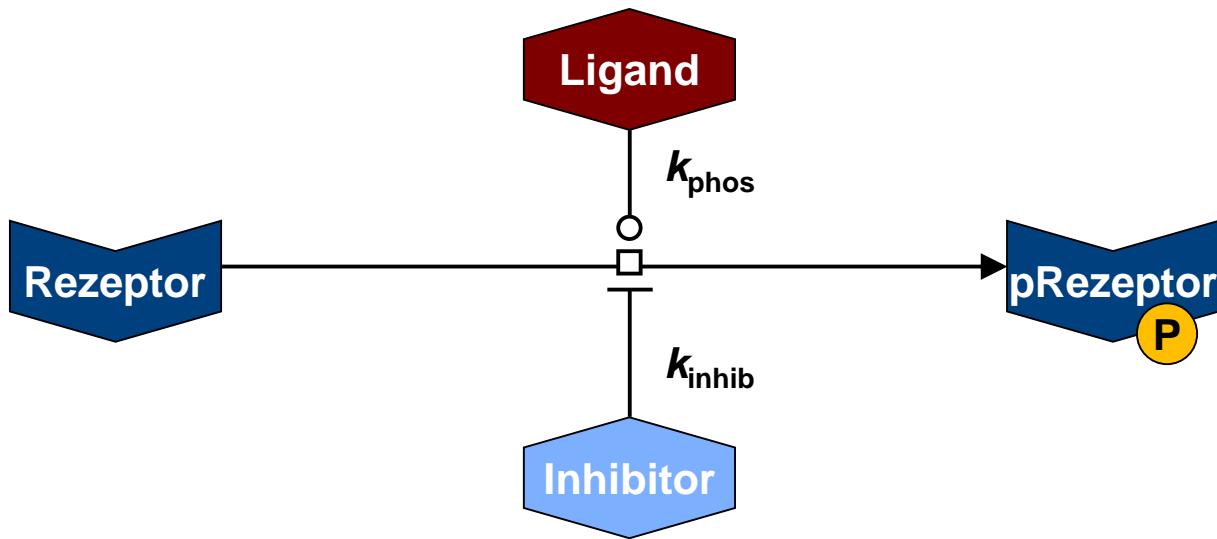
$$\frac{d[\text{Rezeptor}]}{dt} = -k_{\text{phos}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$$

$$\frac{d[\text{pRezeptor}]}{dt} = k_{\text{phos}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}]$$

Enzymatische Reaktionen mit Inhibitor

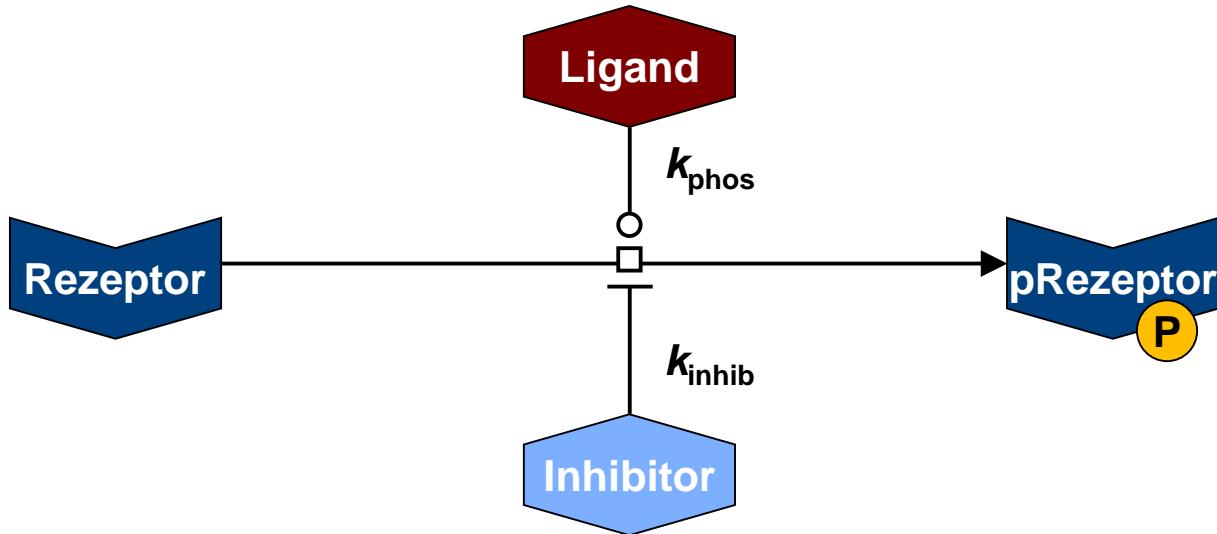


Enzymatische Reaktionen mit Inhibitor



Wir können auch diese Reaktion mit nur einem zusätzlichen Parameter approximieren.

Enzymatische Reaktionen mit Inhibitor

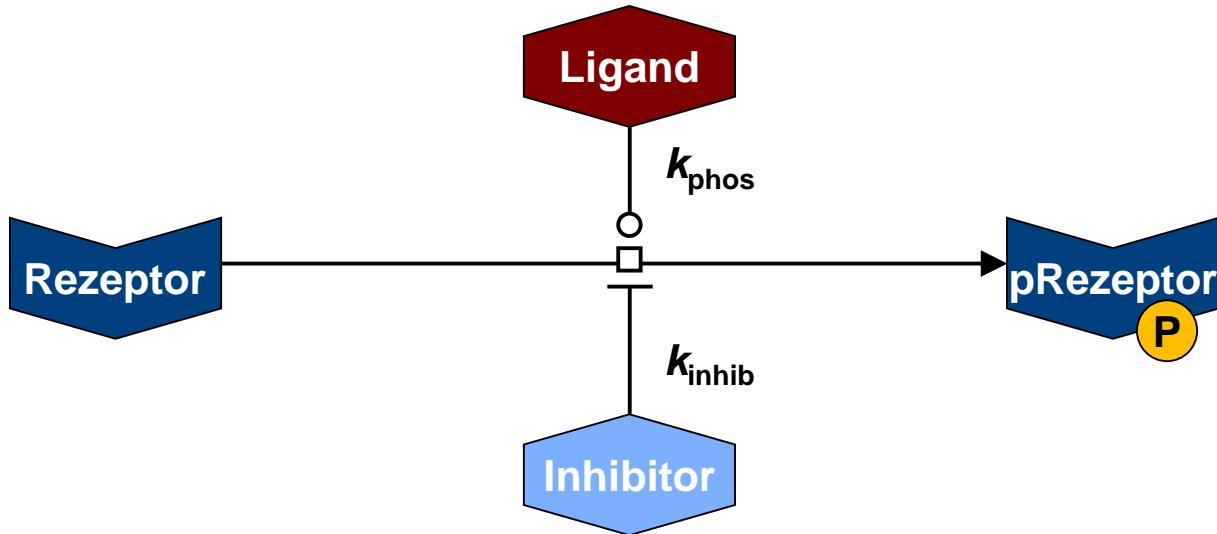


Wir können auch diese Reaktion mit nur einem zusätzlichen Parameter approximieren.

Nun erhalten wir für den phosphorylierten Rezeptor:

$$\frac{d[\text{pRezeptor}]}{dt} = k_{\text{phos}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}] / (1 + k_{\text{inhib}} \cdot [\text{Inhibitor}])$$

Enzymatische Reaktionen mit Inhibitor



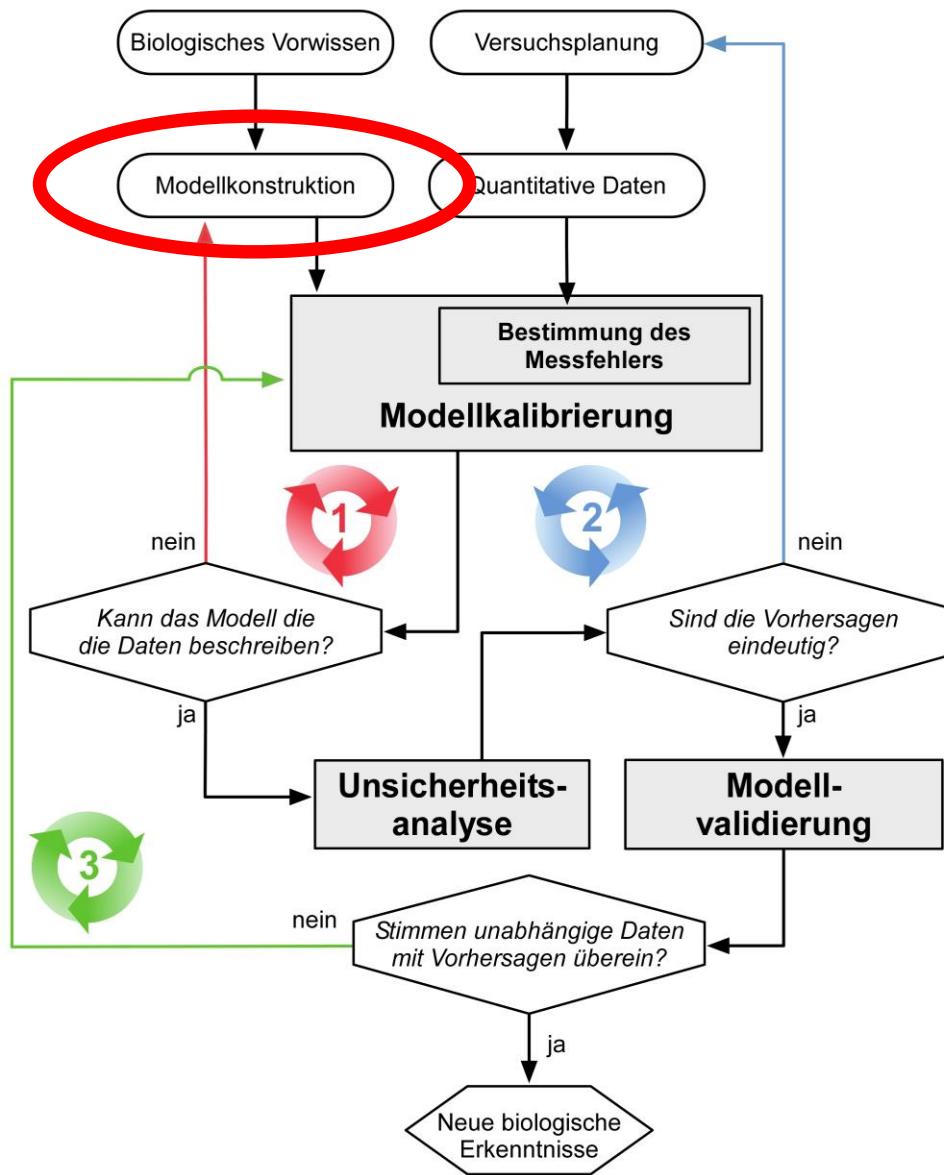
Wir können auch diese Reaktion mit nur einem zusätzlichen Parameter approximieren.

Nun erhalten wir für den phosphorylierten Rezeptor:

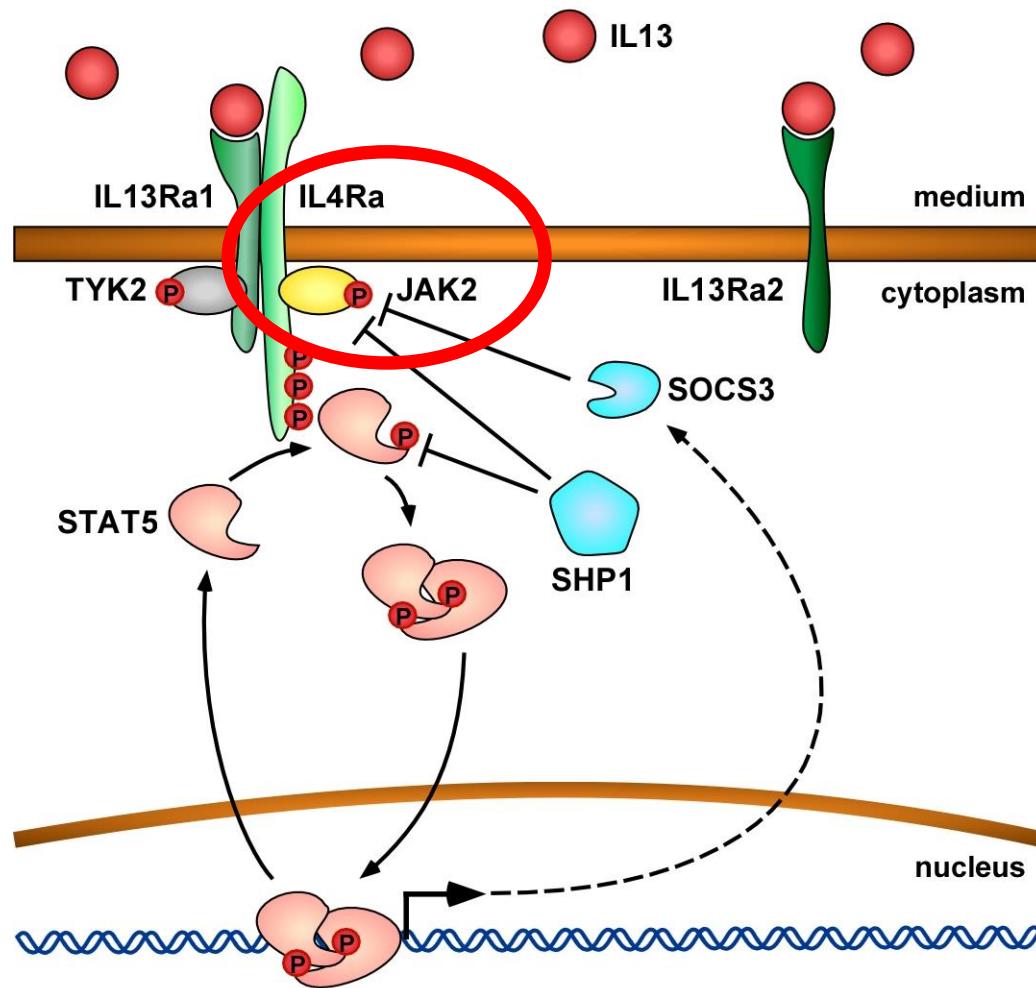
$$\frac{d[\text{pRezeptor}]}{dt} = k_{\text{phos}} \cdot [\text{Ligand}] \cdot [\text{Rezeptor}] / (1 + k_{\text{inhib}} \cdot [\text{Inhibitor}])$$

Wie läuft die Reaktion ab, wenn $[\text{Inhibitor}] = 0$?

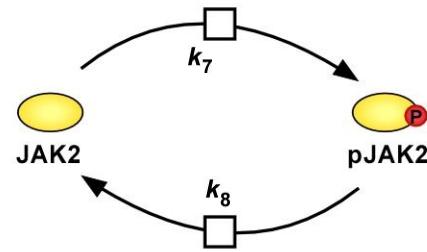
Quantitative dynamische Modellierung



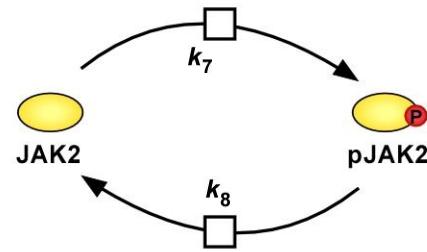
Beispiel: Der IL13-induzierte JAK2/STAT5-Signalweg



Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

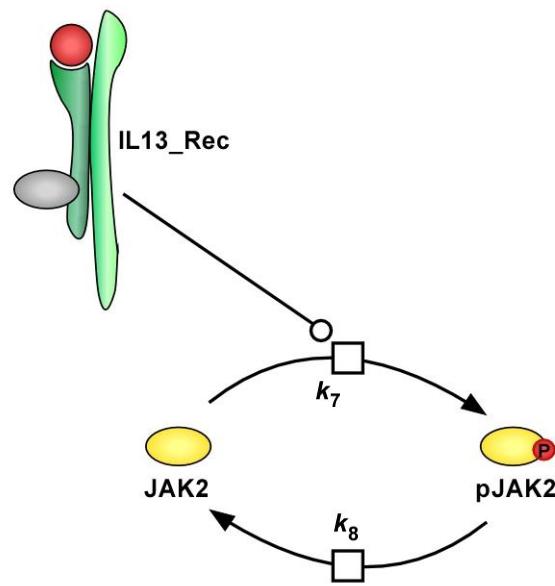


Übersetzung eines Signalweges in Differenzialgleichungen

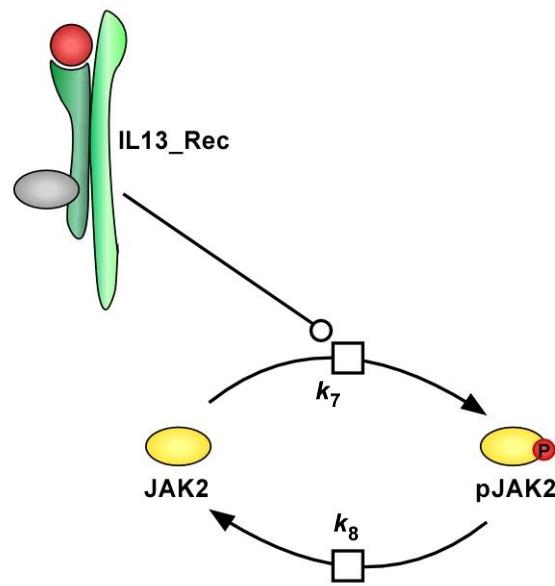


$$\frac{d[\text{pJAK2}]}{dt} = k_7 \cdot [\text{JAK2}] - k_8 \cdot [\text{pJAK}]$$

Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

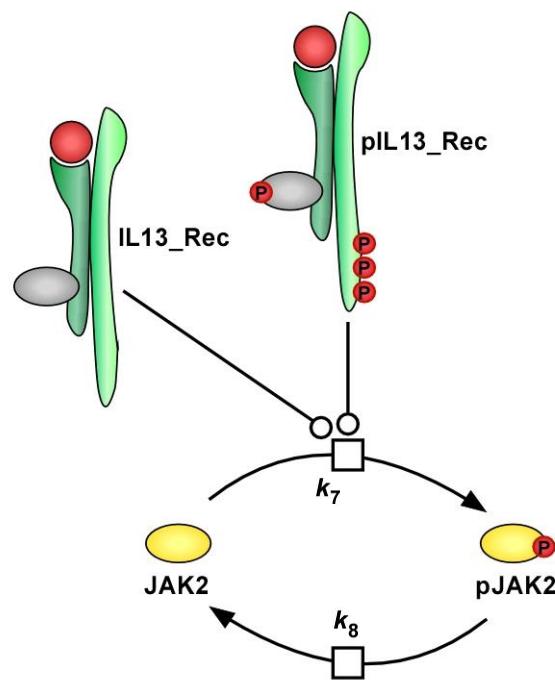


Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

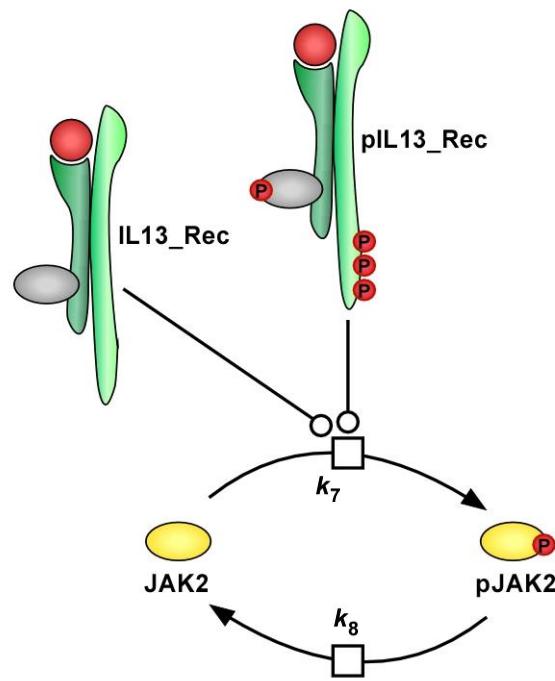


$$\frac{d[\text{pJAK2}]}{dt} = k_7 \cdot [\text{IL13_Rec}] \cdot [\text{JAK2}] - k_8 \cdot [\text{pJAK2}]$$

Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

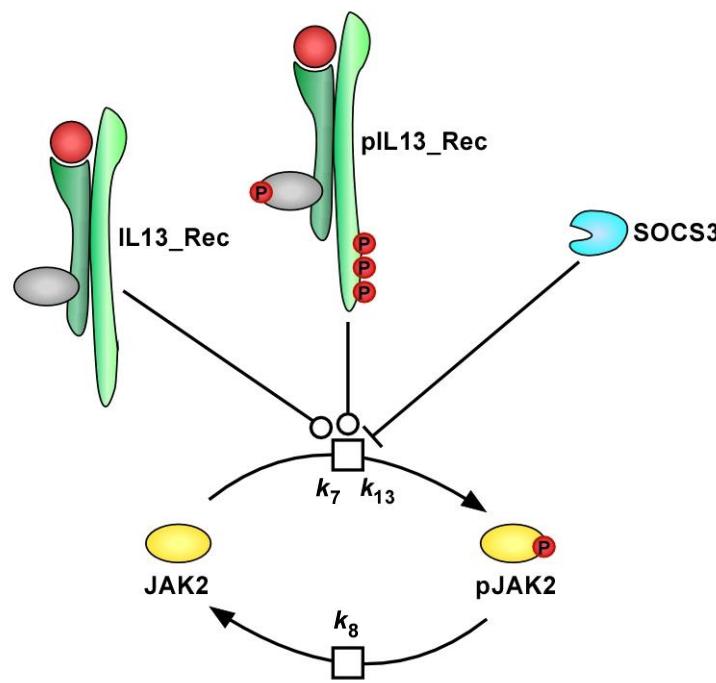


Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

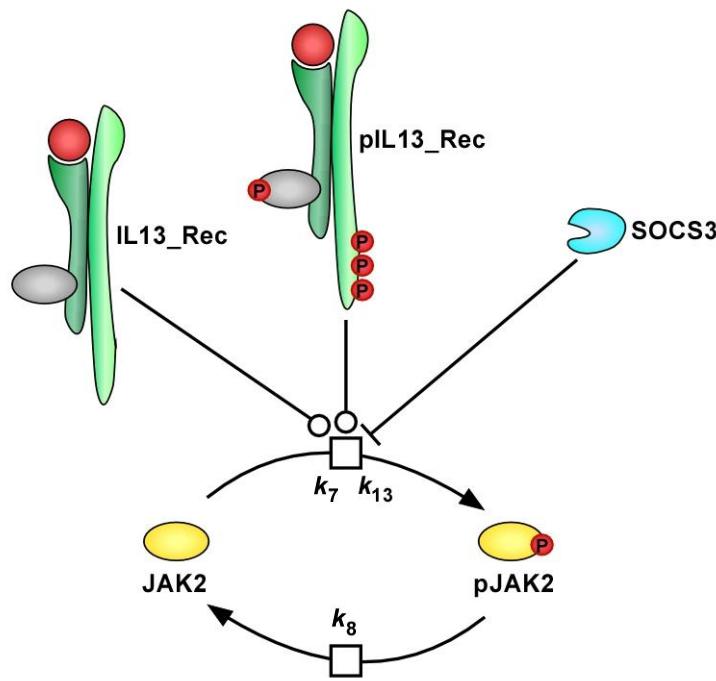


$$\frac{d[\text{pJAK2}]}{dt} = k_7 \cdot ([\text{IL13_Rec}] + [\text{pIL13_Rec}]) \cdot [\text{JAK2}] - k_8 \cdot [\text{pJAK2}]$$

Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

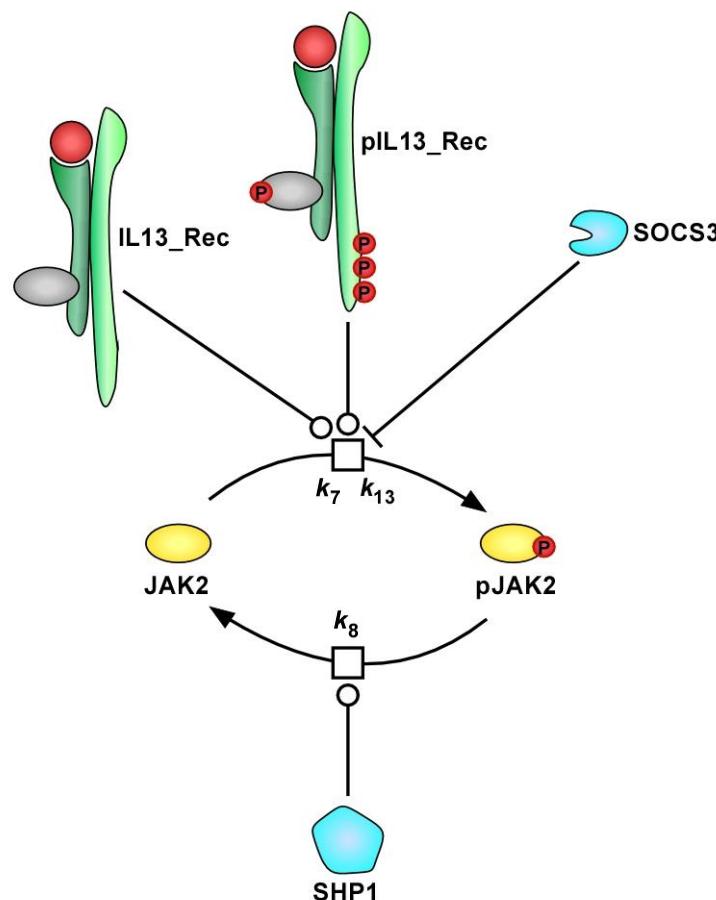


Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen

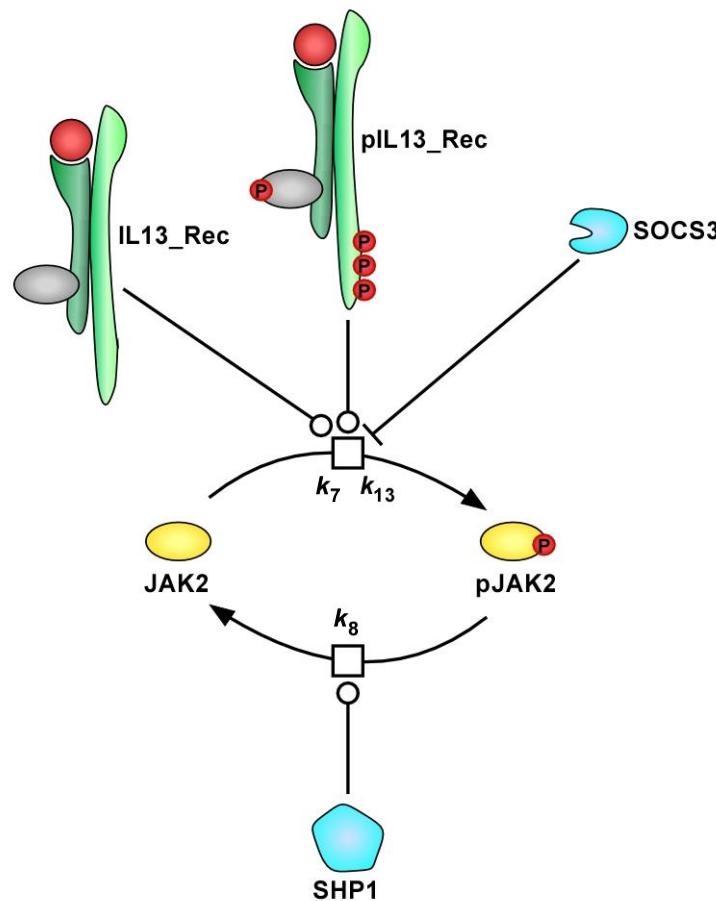


$$\frac{d[\text{pJAK2}]}{dt} = \frac{k_7 \cdot ([\text{IL13_Rec}] + [\text{pIL13_Rec}] \cdot [\text{JAK2}]) - k_{13} \cdot [\text{SOCS3}]}{1 + k_{13} \cdot [\text{SOCS3}]} - k_8 \cdot [\text{pJAK2}]$$

Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen



Übersetzung eines Signalweges in Differentialgleichungen



$$\frac{d[\text{pJAK2}]}{dt} = \frac{k_7 \cdot ([\text{IL13_Rec}] + [\text{pIL13_Rec}]) \cdot [\text{JAK2}]}{1 + k_{13} \cdot [\text{SOCS3}]} - k_8 \cdot [\text{SHP1}] \cdot [\text{pJAK2}]$$

Modellgleichungen

Rec	$\dot{x}_1 = -k_1 \cdot u_1 \cdot x_1 \cdot 2.265 - k_5 \cdot x_1 + k_6 \cdot x_2$
Rec_i	$\dot{x}_2 = +k_5 \cdot x_1 - k_6 \cdot x_2$
IL13_Rec	$\dot{x}_3 = +k_1 \cdot u_1 \cdot x_1 \cdot 2.265 - k_2 \cdot x_3 \cdot x_7$
p_IL13_Rec	$\dot{x}_4 = +k_2 \cdot x_3 \cdot x_7 - k_3 \cdot x_4$
p_IL13_Rec_i	$\dot{x}_5 = +k_3 \cdot x_4 - k_4 \cdot x_5$
JAK2	$\dot{x}_6 = -k_7 \cdot x_3 \cdot x_6 / (1 + k_{13} \cdot x_{14}) - k_7 \cdot x_4 \cdot x_6 / (1 + k_{13} \cdot x_{14}) + k_8 \cdot x_7 \cdot x_8$
pJAK2	$\dot{x}_7 = +k_7 \cdot x_3 \cdot x_6 / (1 + k_{13} \cdot x_{14}) + k_7 \cdot x_4 \cdot x_6 / (1 + k_{13} \cdot x_{14}) - k_8 \cdot x_7 \cdot x_8$
SHP1	$\dot{x}_8 = 0$
STAT5	$\dot{x}_9 = -k_9 \cdot x_9 \cdot x_7 + k_{10} \cdot x_{10} \cdot x_8$
pSTAT5	$\dot{x}_{10} = +k_9 \cdot x_9 \cdot x_7 - k_{10} \cdot x_{10} \cdot x_8$
SOCS3mRNA	$\dot{x}_{11} = +x_{10} \cdot k_{11}$
DecoyR	$\dot{x}_{12} = -k_{12} \cdot u_1 \cdot x_{12} \cdot 2.265$
IL13_DecoyR	$\dot{x}_{13} = +k_{12} \cdot u_1 \cdot x_{12} \cdot 2.265$
SOCS3	$\dot{x}_{14} = +x_{11} \cdot k_{14} / (k_{15} + x_{11}) - k_{16} \cdot x_{14}$
CD274mRNA	$\dot{x}_{15} = +x_{10} \cdot k_{17}$

- **\dot{x} ist eine alternative Schreibweise für dx/dt**
- **u_1 ist der Input (IL13)**
- **2.265 ist ein Korrekturfaktor für ng/ml von IL13 zu IL13 Molekülen pro Zelle**

Unbekannte Modellparameter

Parameter

$k_1 = \text{Kon_IL13Rec}$
 $k_2 = \text{Rec_phosphorylation}$
 $k_3 = \text{pRec_intern}$
 $k_4 = \text{pRec_degradation}$
 $k_5 = \text{Rec_intern}$
 $k_6 = \text{Rec_recycle}$
 $k_7 = \text{JAK2_phosphorylation}$
 $k_8 = \text{pJAK2_dephosphorylation}$
 $k_9 = \text{STAT5_phosphorylation}$
 $k_{10} = \text{pSTAT5_dephosphorylation}$
 $k_{11} = \text{SOCS3mRNA_production}$
 $k_{12} = \text{DecoyR_binding}$
 $k_{13} = \text{JAK2_p_inhibition}$
 $k_{14} = \text{SOCS3_translation}$
 $k_{15} = \text{SOCS3_accumulation}$
 $k_{16} = \text{SOCS3_degradation}$
 $k_{17} = \text{CD274mRNA_production}$

Skalierungsfaktoren

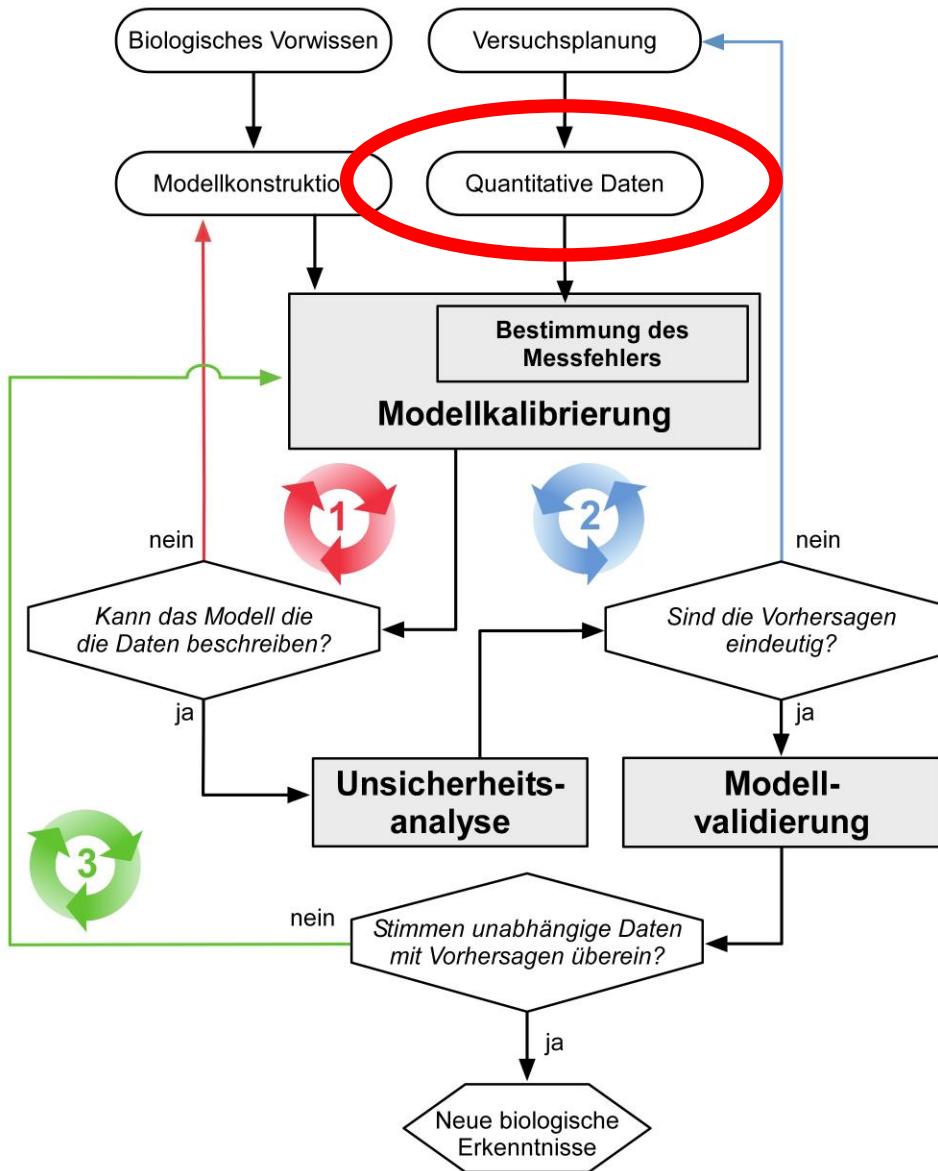
$k_{18} = \text{Rec_i}$
 $k_{19} = \text{scale_pJAK2}$
 $k_{20} = \text{scale_pIL4Ra}$
 $k_{21} = \text{scale_IL13-cell}$
 $k_{22} = \text{scale_SOCS3mRNA}$
 $k_{23} = \text{scale_CD274mRNA}$

Initialbedingungen

Rec
JAK2
SHP1
STAT5
DecoyR

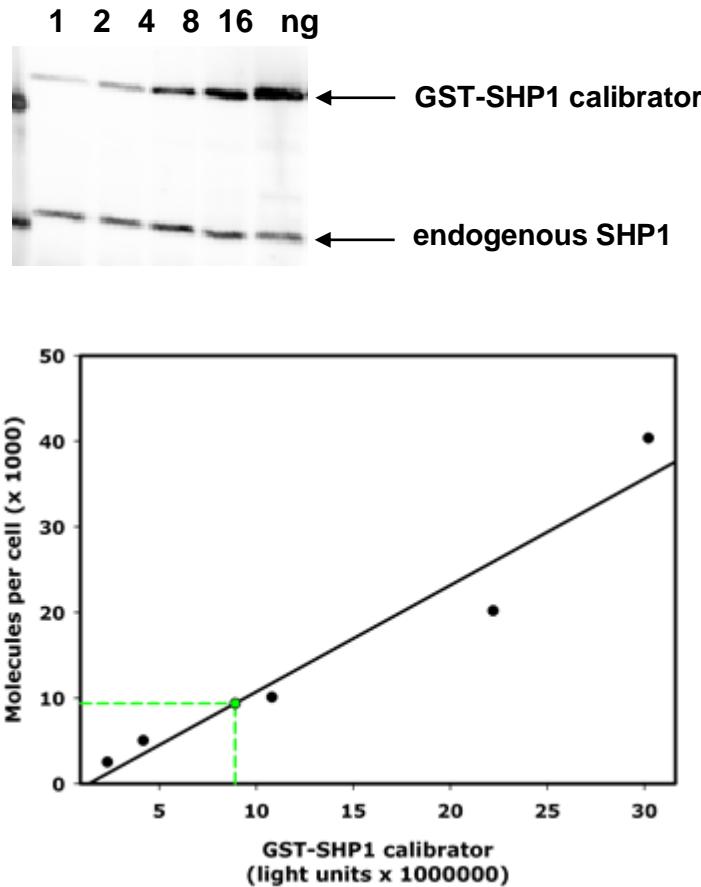
- **17 Reaktionsraten, 6 Skalierungsparameter and 5 Initialbedingungen müssen geschätzt werden**

Quantitative dynamische Modellierung

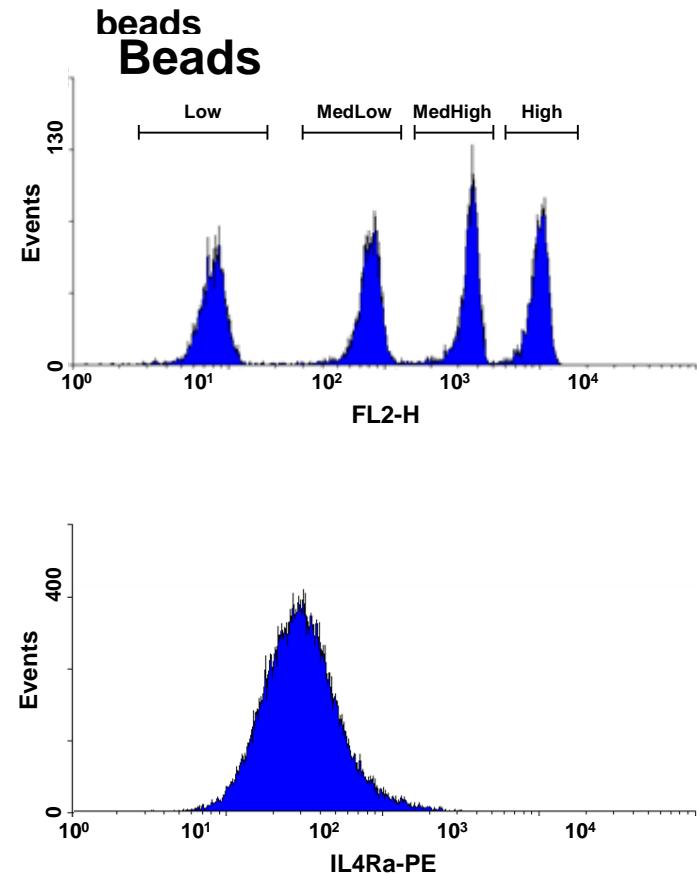


Bestimmung der Initialbedingungen

Quantitativer Immunoblot (STAT6, STAT5, SHP1, JAK2)

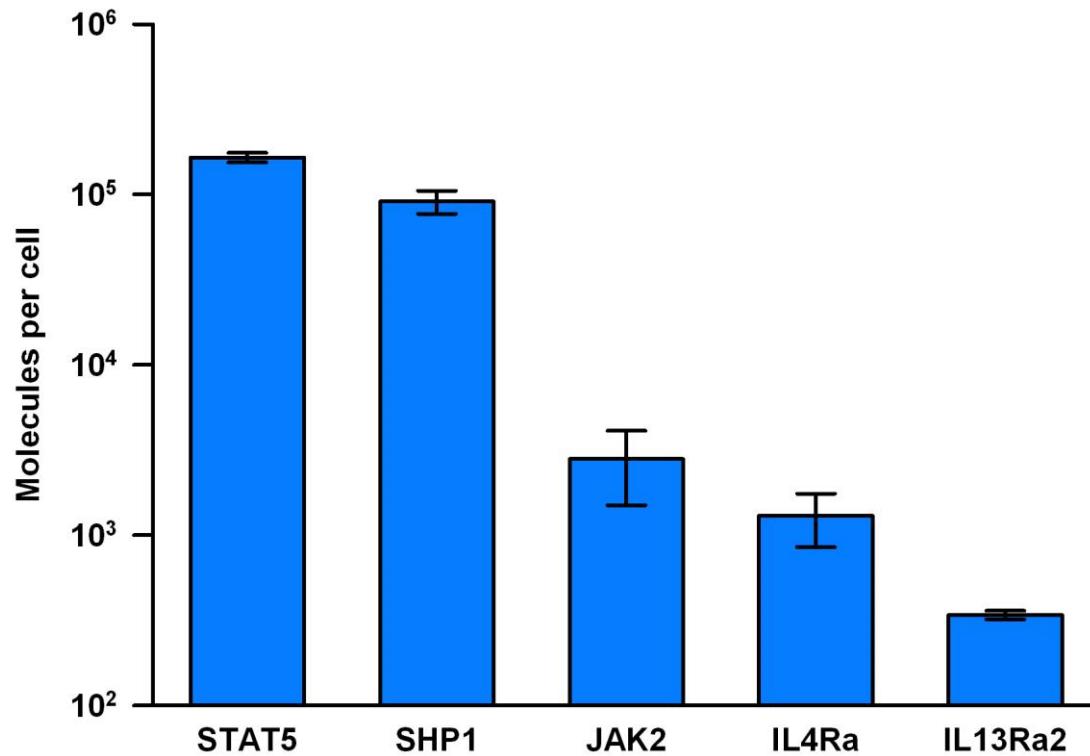


Durchflusszytometrie (IL4Ra, IL13Ra2)



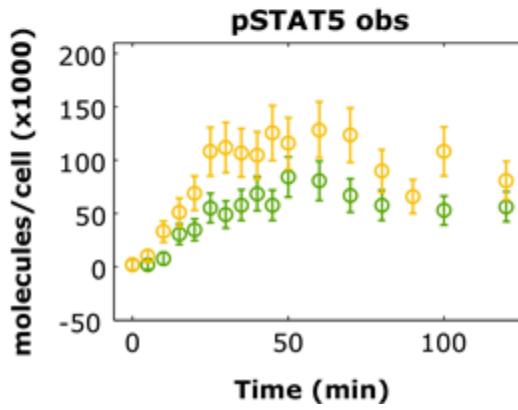
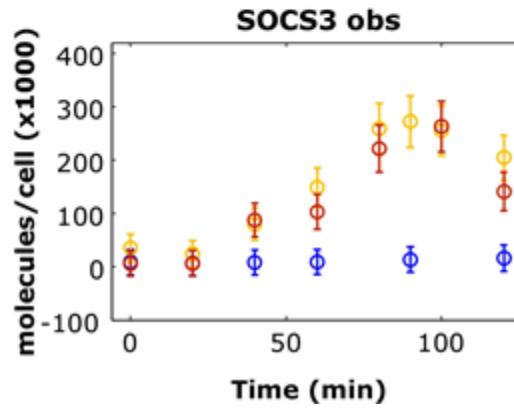
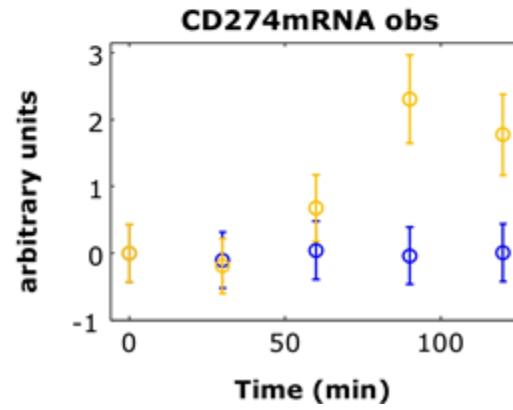
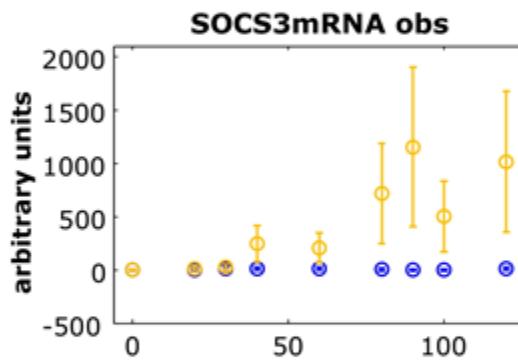
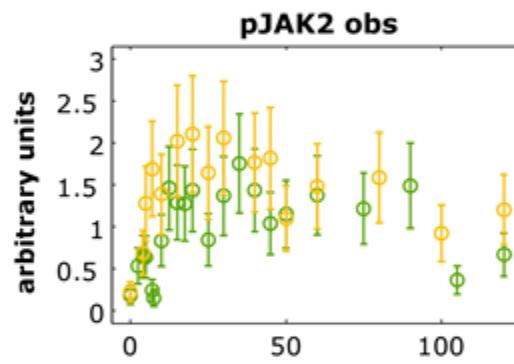
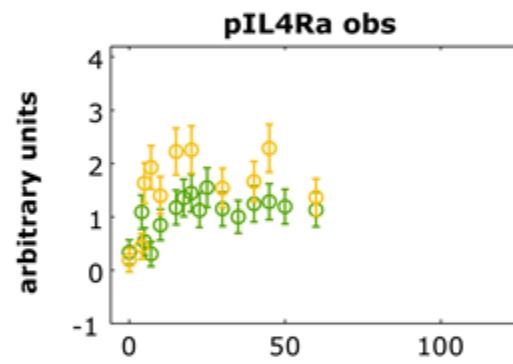
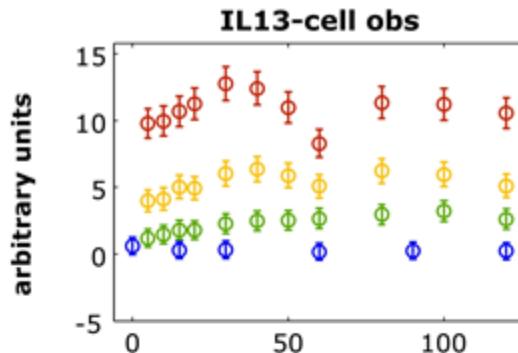
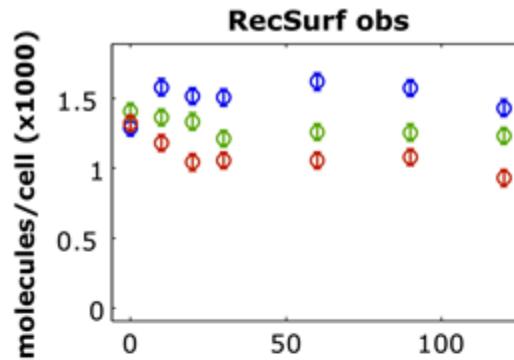
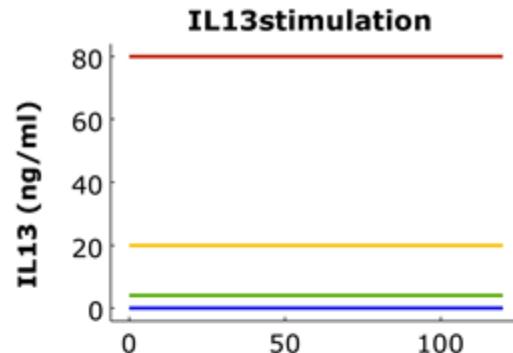
- Experimente in MedB-1 Zellen
(Zelllinie aus primärem mediastinalem B-Zellen-Lymphom)

Bestimmung der Initialbedingungen



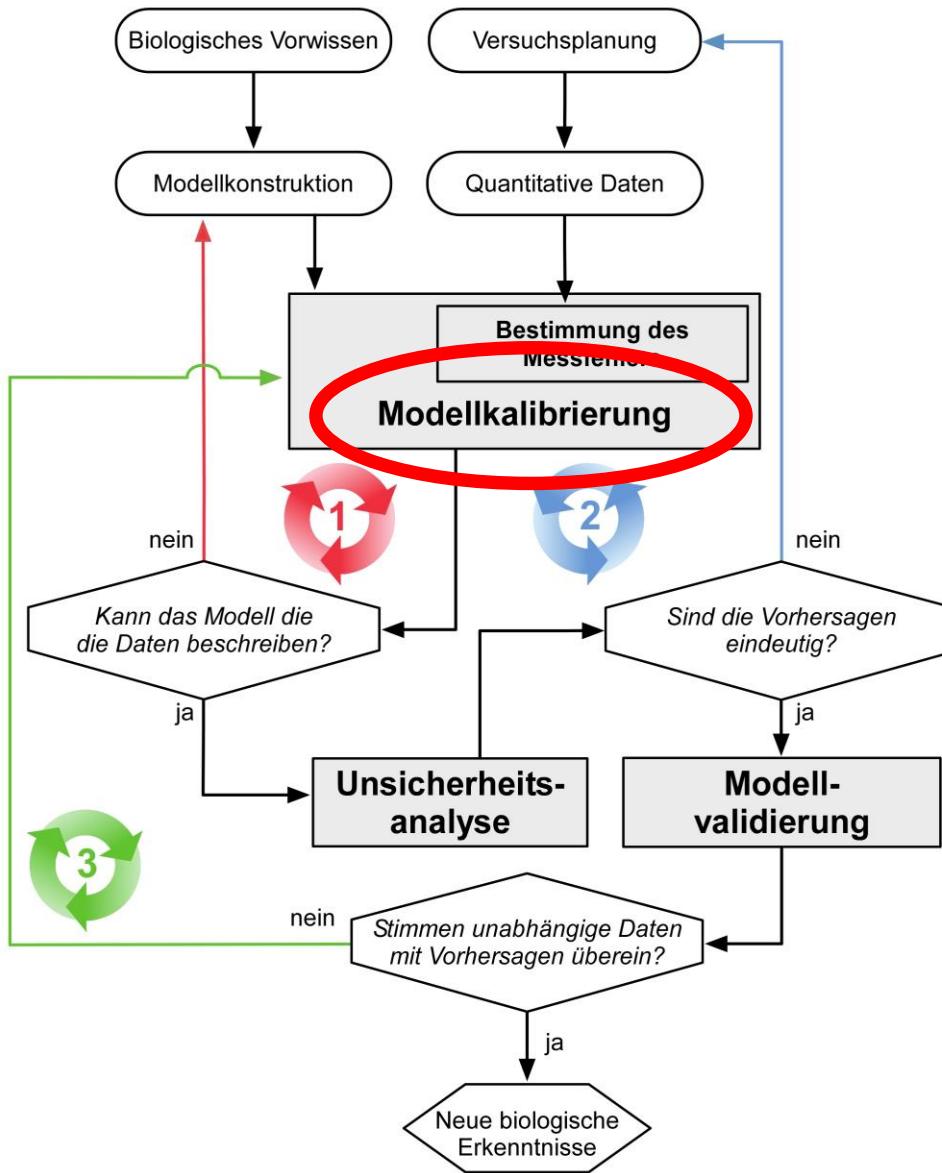
- Proteinmenge pro Zelle als Initialbedingungen für das Modell

Quantitative Daten für die Parameterschätzung



Anzahl Datenpunkte = 207

Quantitative dynamische Modellierung



Parameterschätzung

**Minimierung der Zielfunktion durch
Veränderung der Parameter:**

$$\chi^2(\mathbf{p}) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{y_i - y(t_i; \mathbf{p})}{\sigma_i} \right)^2$$

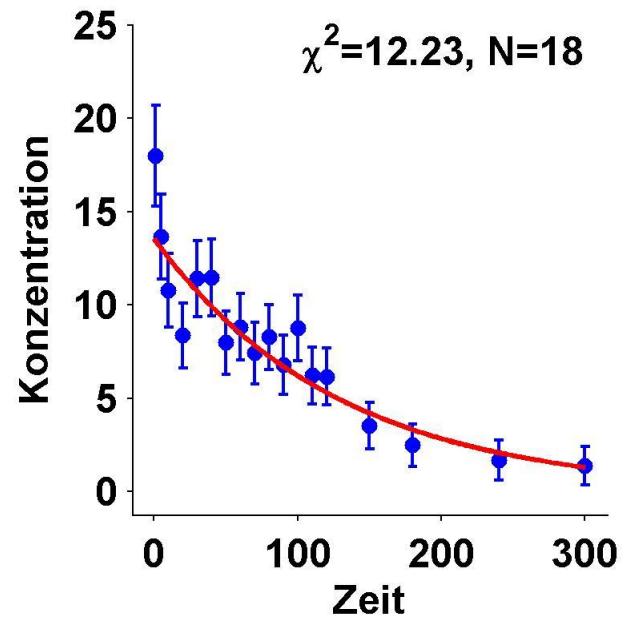
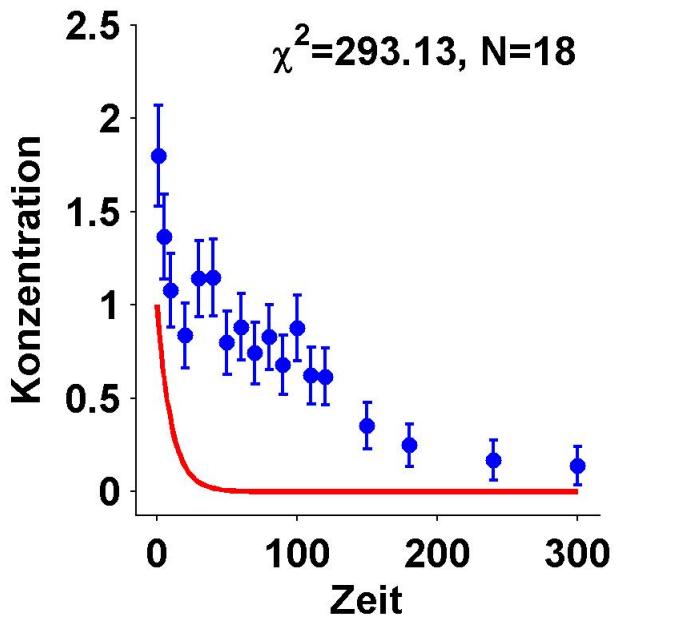
χ^2	Zielfunktion
\mathbf{p}	Parameter
N	Anzahl Datenpunkte
y_i	Datenpunkt (Beobachtung)
$y(t_i; \mathbf{p})$	Modellverlauf
t_i	Zeitpunkt
σ_i	Standardabweichung von y_i

Parameterschätzung

Minimierung der Zielfunktion durch Veränderung der Parameter:

$$\chi^2(\mathbf{p}) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{y_i - y(t_i; \mathbf{p})}{\sigma_i} \right)^2$$

χ^2	Zielfunktion
\mathbf{p}	Parameter
N	Anzahl Datenpunkte
y_i	Datenpunkt (Beobachtung)
$y(t_i; \mathbf{p})$	Modellverlauf
t_i	Zeitpunkt
σ_i	Standardabweichung von y_i



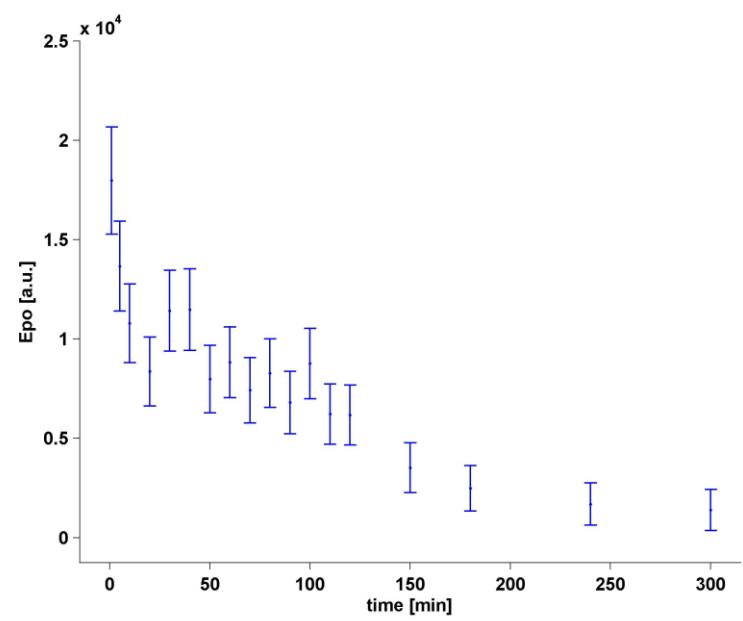
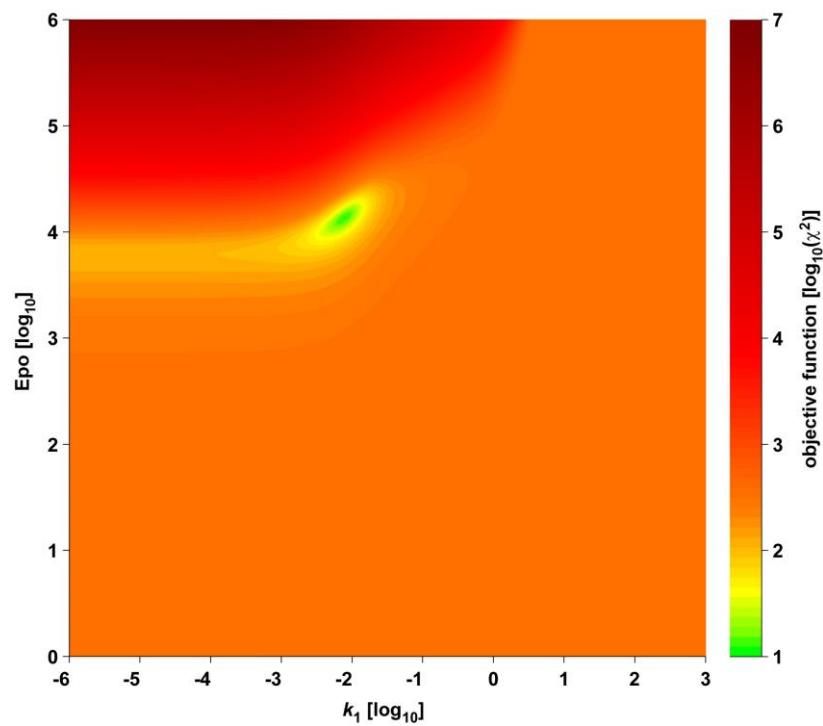
Numerische Optimierung

Die Aufgabe besteht darin, die optimalen Parameter eines – meist komplexen – Systems zu finden.

Dazu wird eine eindeutig definierte Zielfunktion minimiert.

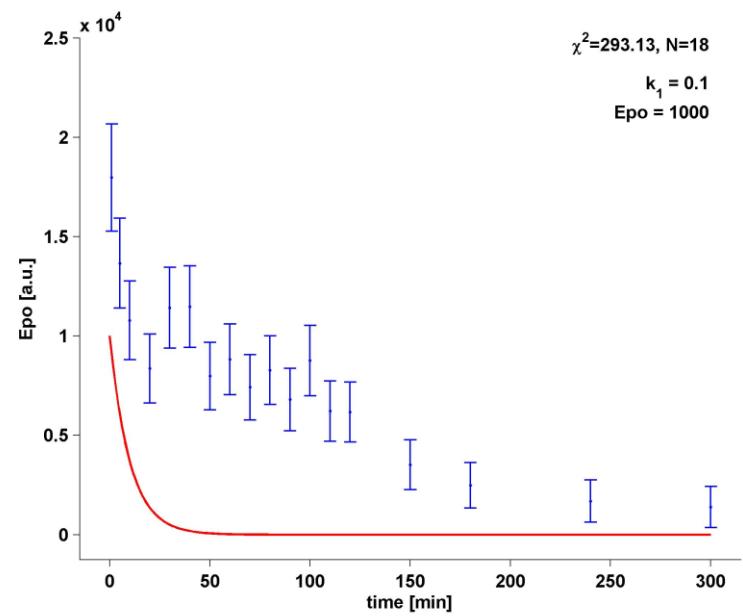
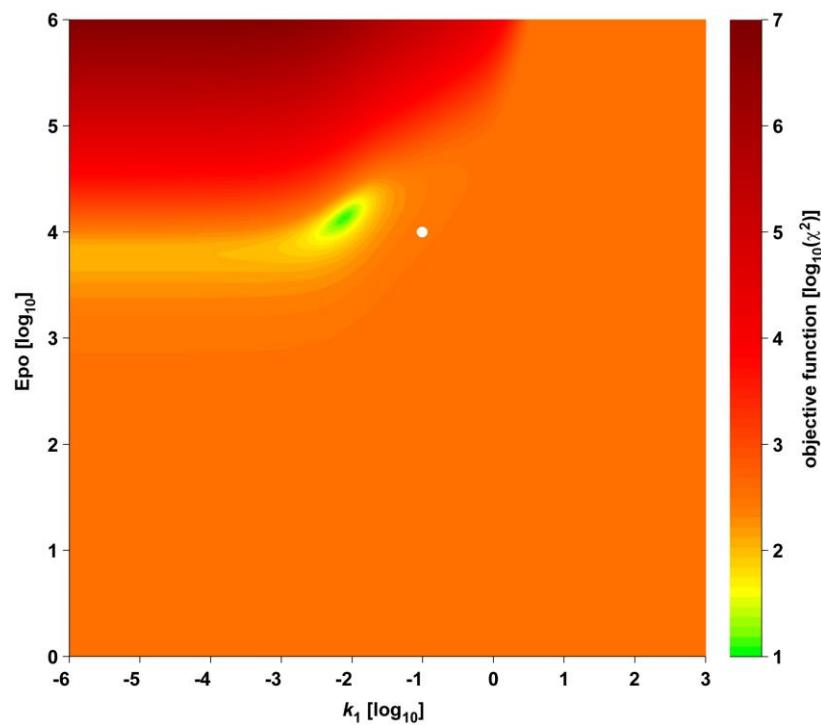
In der quantitativen dynamischen Modellierung ist das der Unterschied von Modellsimulation zu den experimentellen Daten.

Parameterschätzung



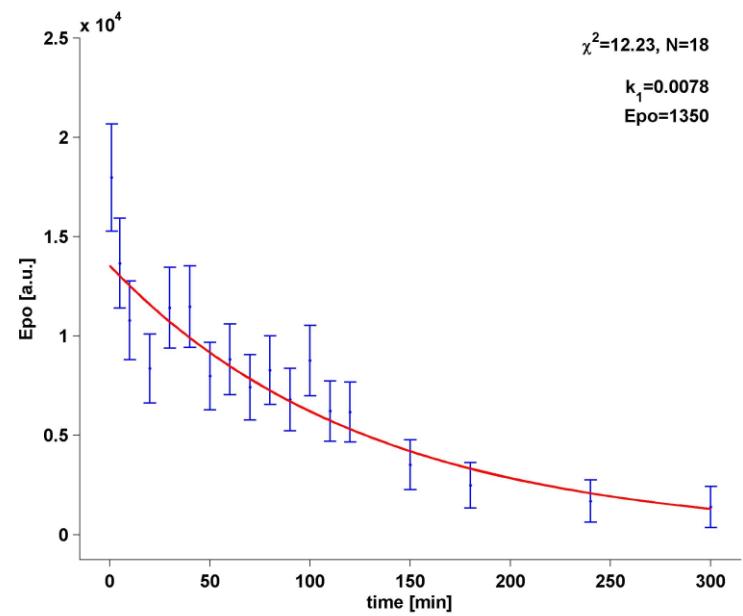
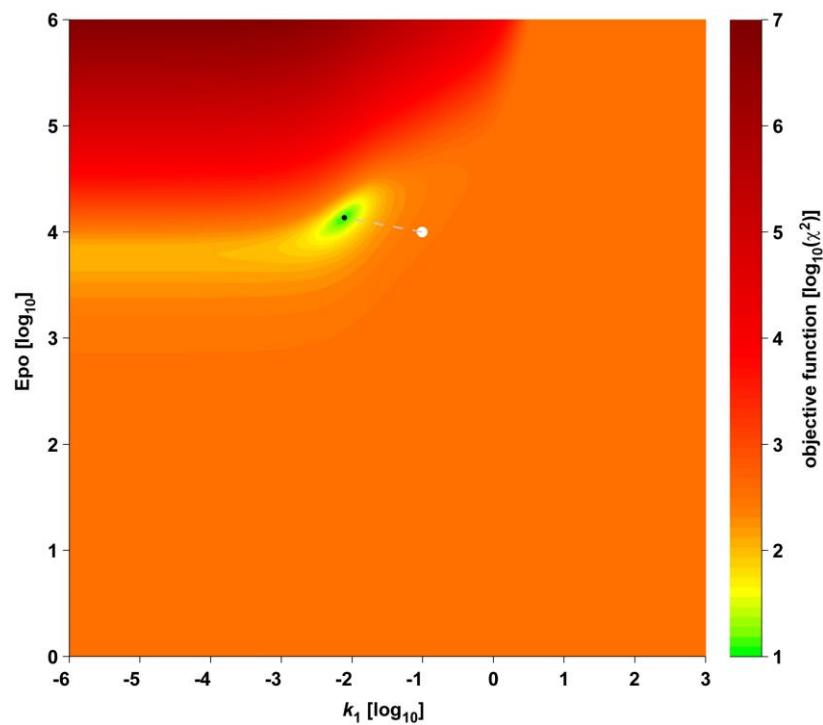
➤ Modell mit zwei geschätzten Parametern

Parameterschätzung



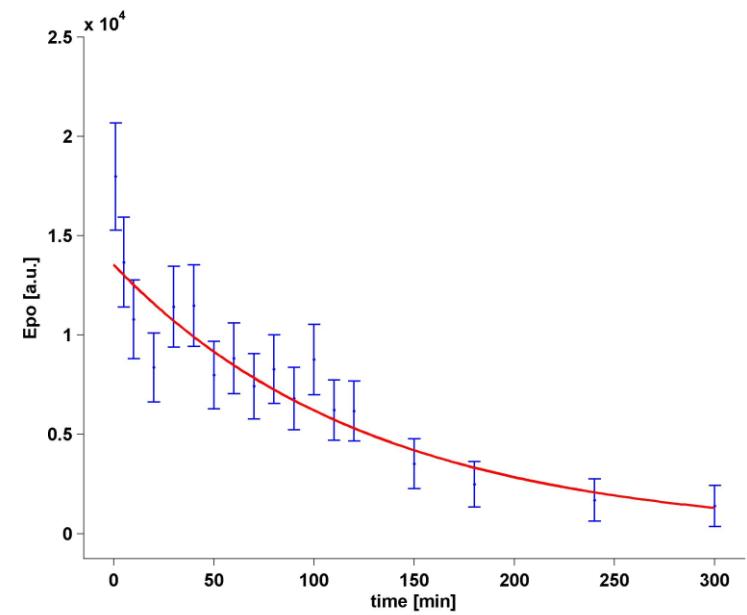
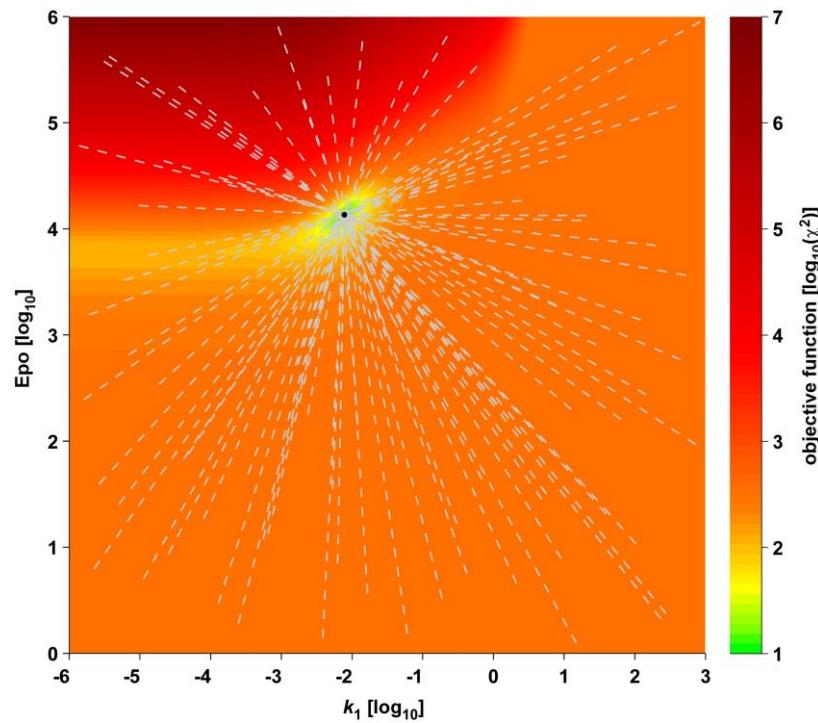
➤ Modell mit zufälligen Parameterwerten beschreibt die Daten nicht

Parameterschätzung



➤ Parameterschätzung führt zu Übereinstimmung von Modell und Daten

Multistart-Parameterschätzung mit zufälligen Startwerten



- Sequenz mit zufälligen Anfangswerten für die Parameter beschreibt globales Optimum

Parameterschätzung von gekoppelten Differenzialgleichungen

Numerischer Integrator der Differenzialgleichungen

CVODES

Hindmarsh AC, Brown PN, Grant KE, Lee SL, Serban R, Shumaker DE, Woodward CS (2005)

Sundials: suite of nonlinear and differential/algebraic equation solvers. ACM Trans Math Softw 31: 363–396

Optimierungsalgorithmus

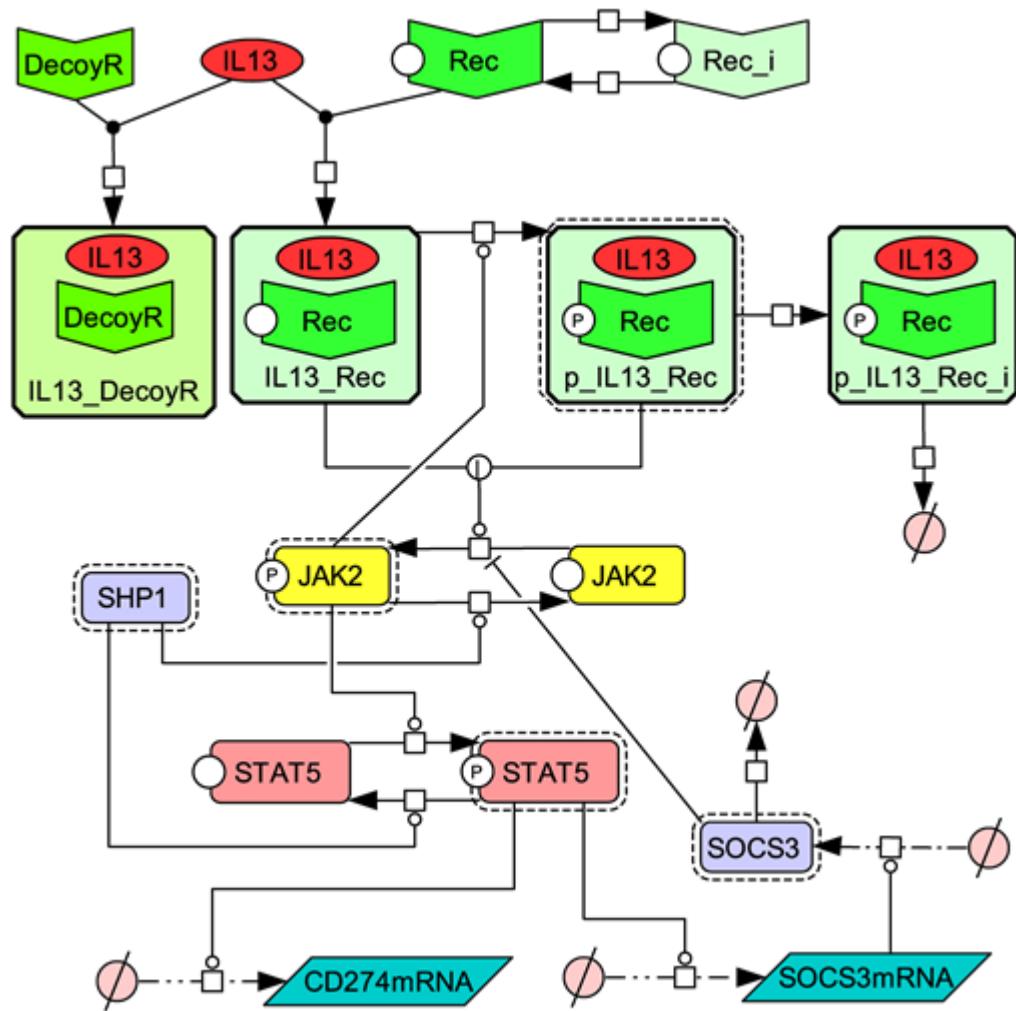
Lokaler Optimierer in Verbindung mit einer Multistart-Methode

LSQNONLIN (Matlab, Optimization toolbox)

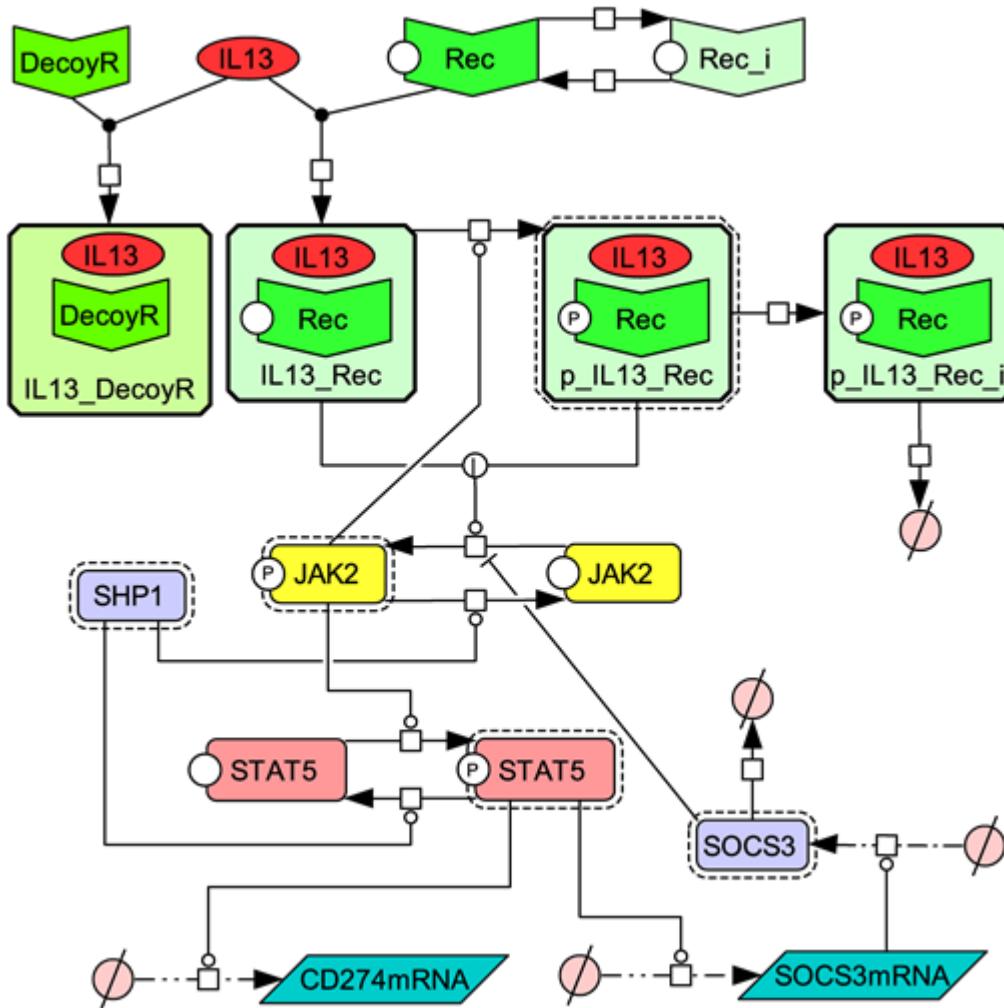
Data2Dynamics Software

www.data2dynamics.org

Schema des mathematischen Modells



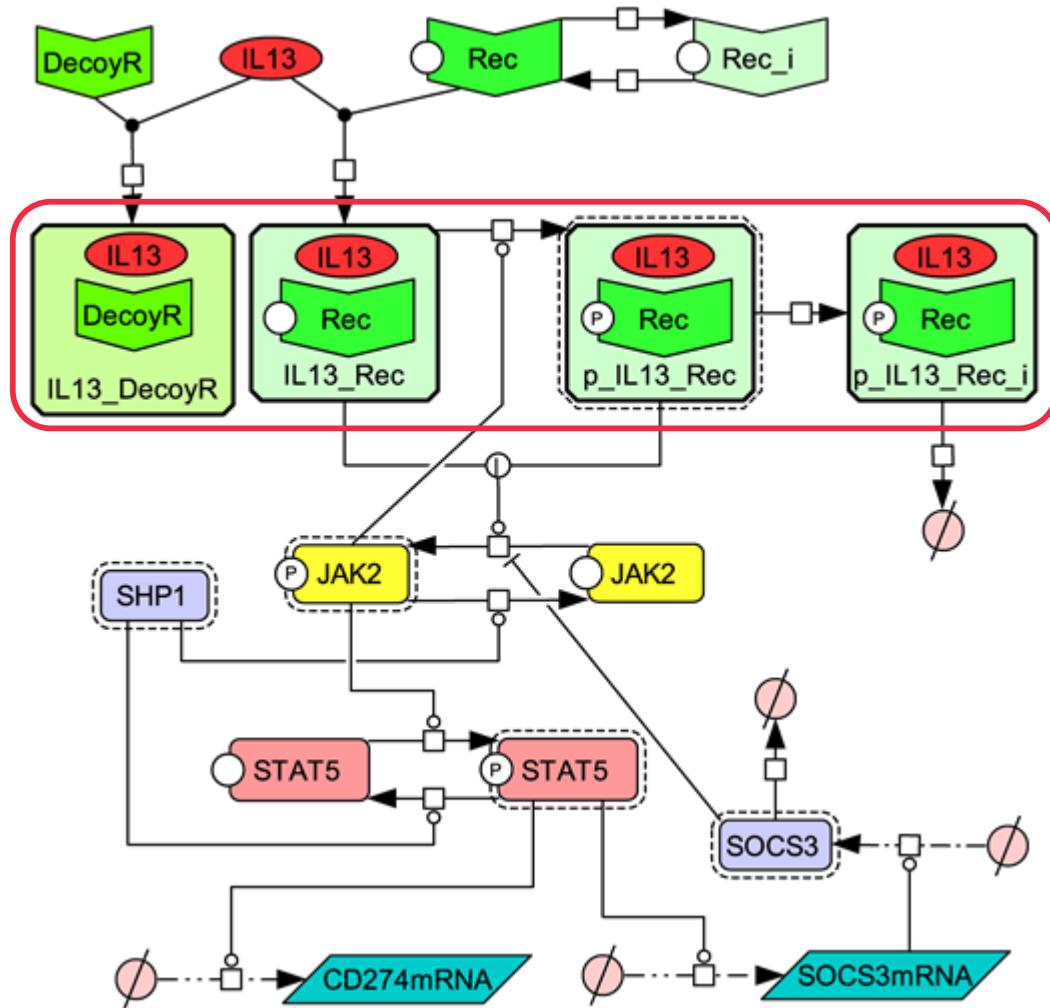
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

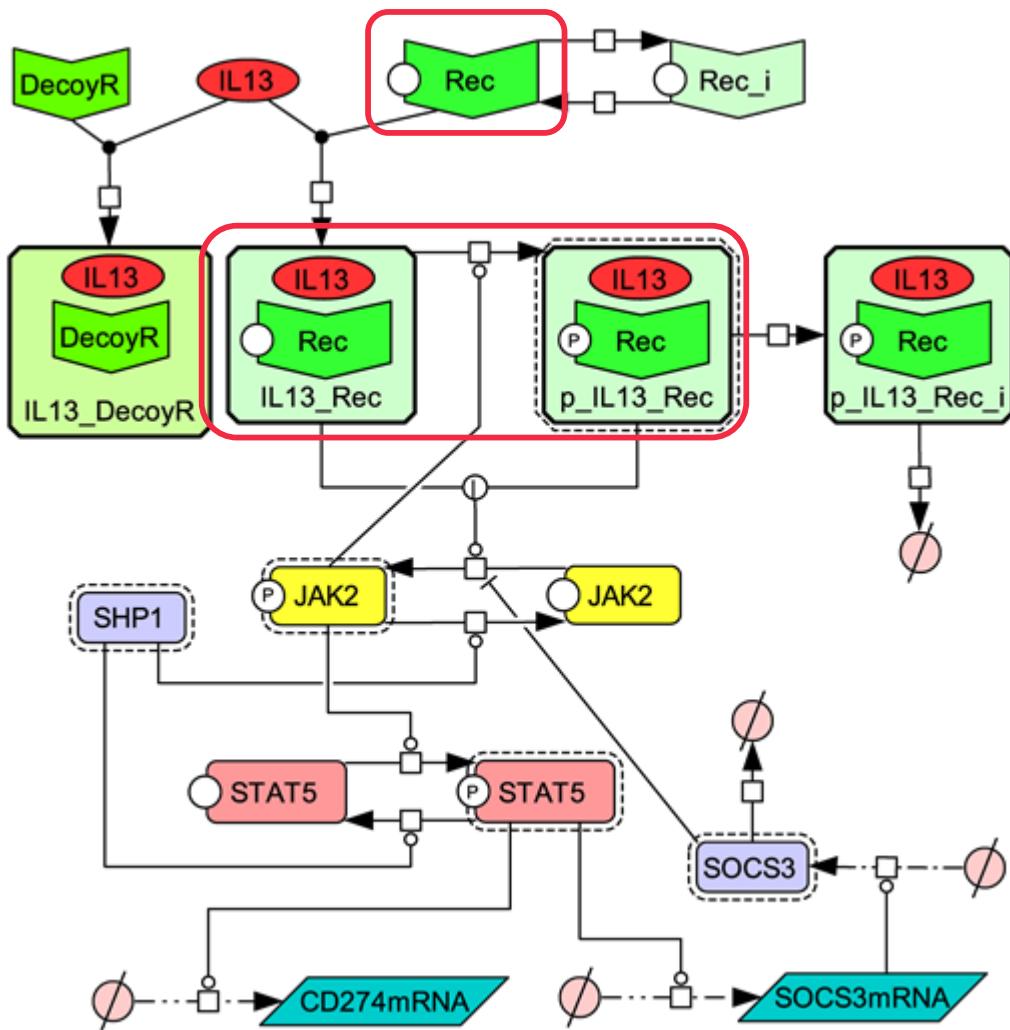
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

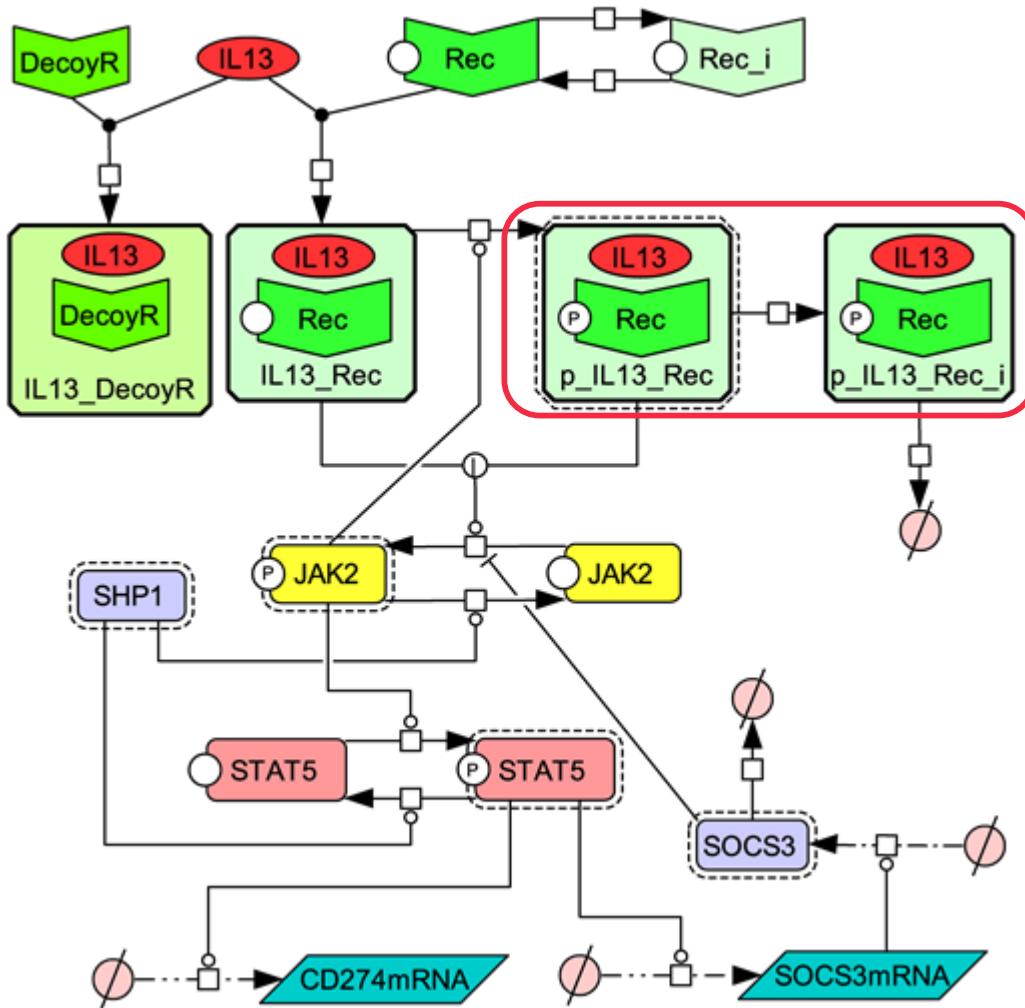
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

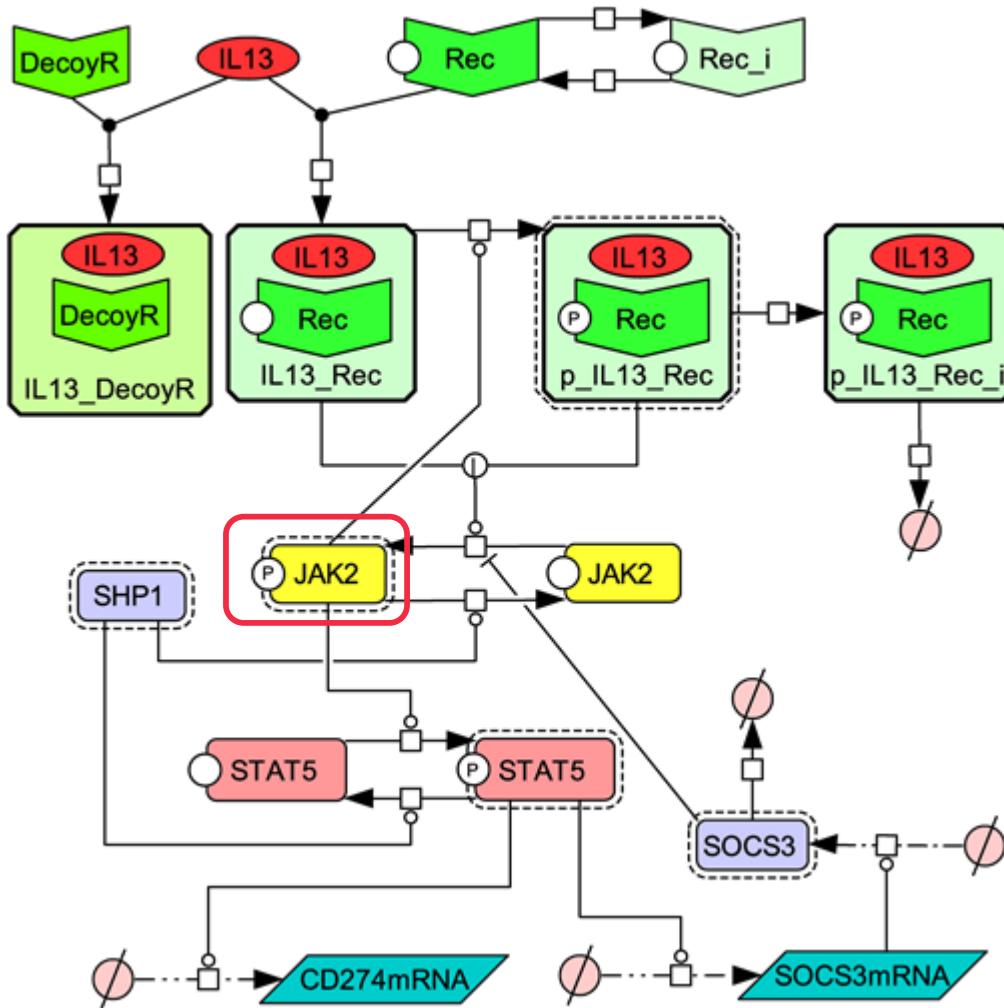
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

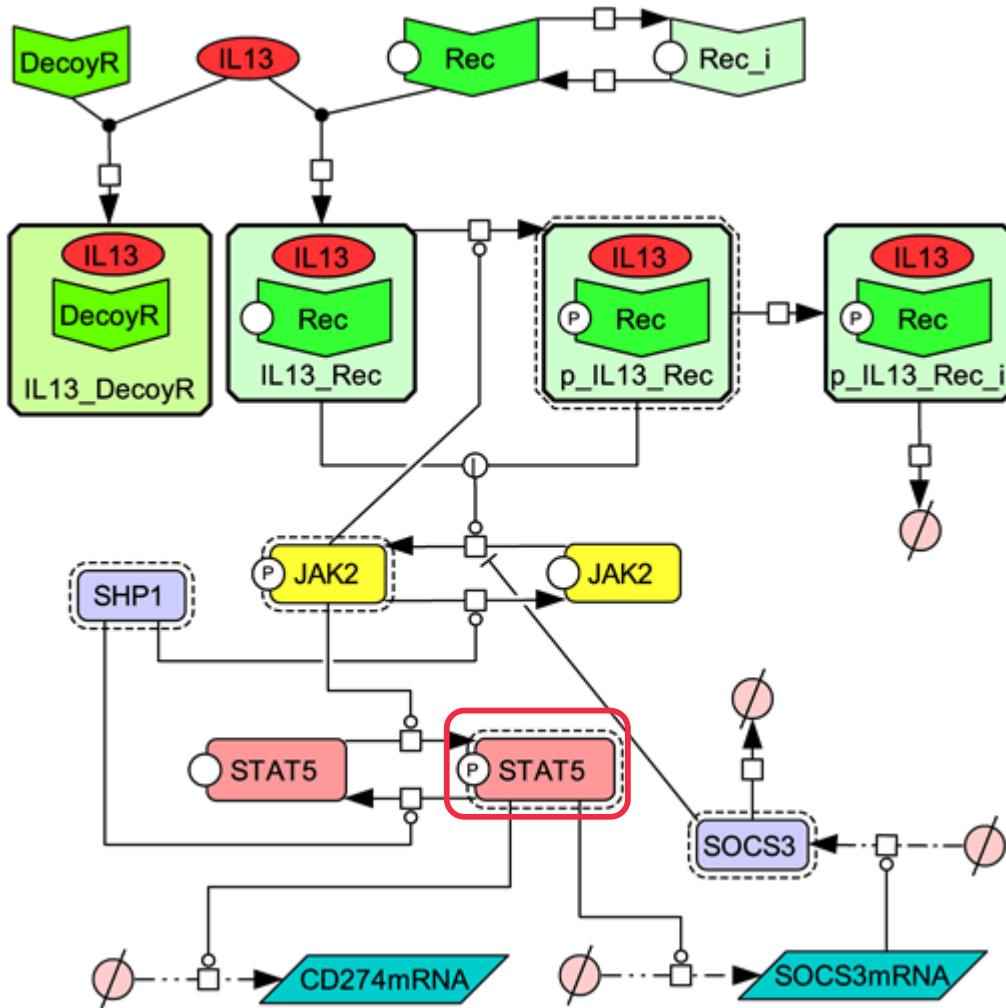
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

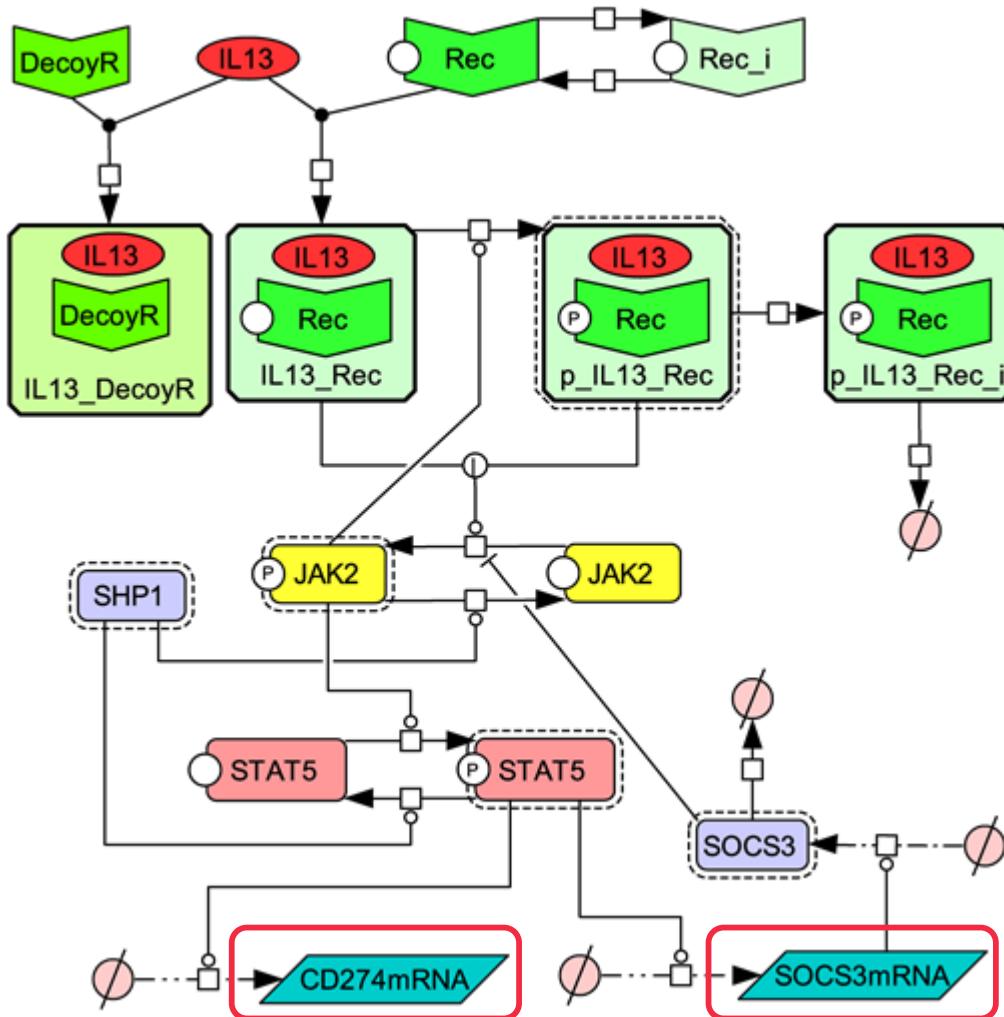
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

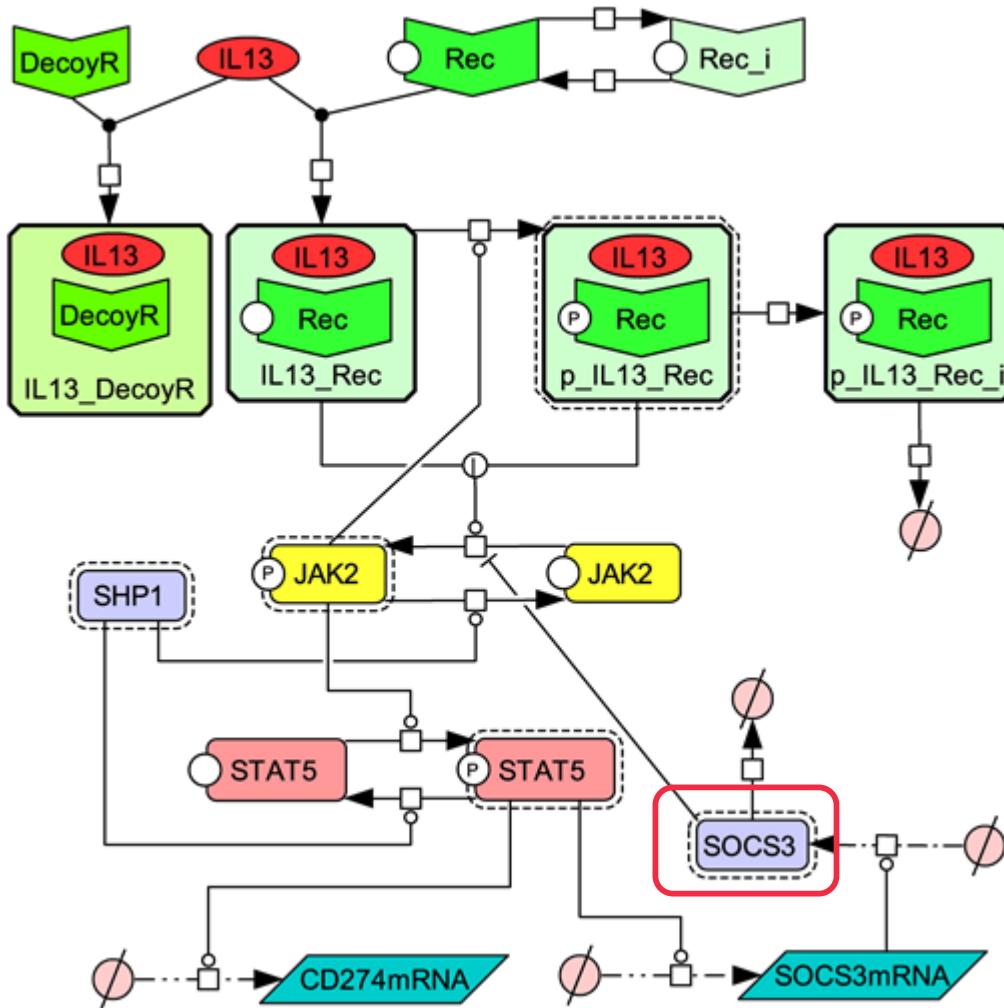
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

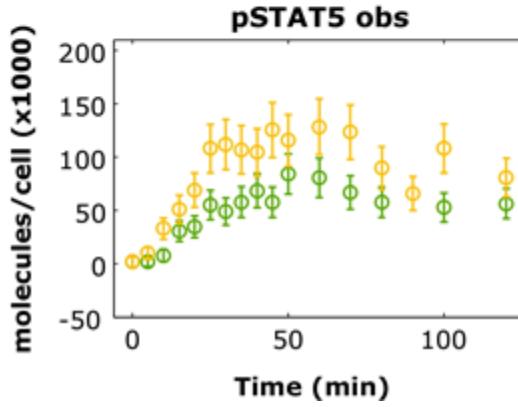
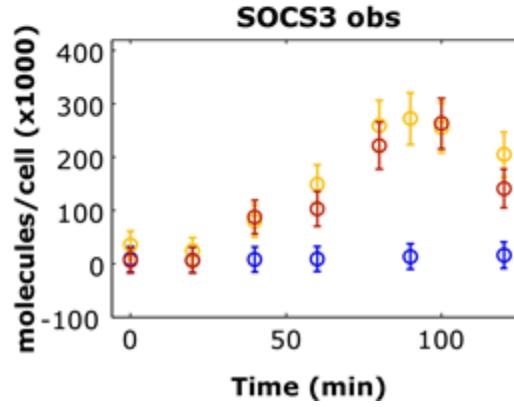
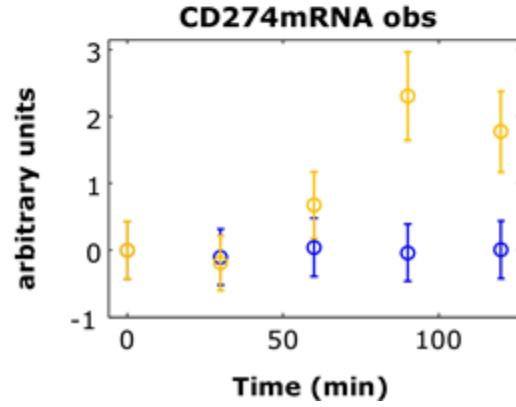
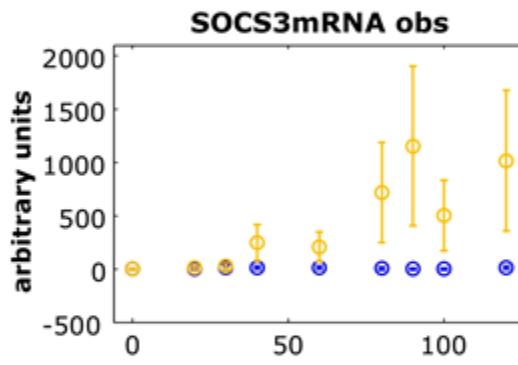
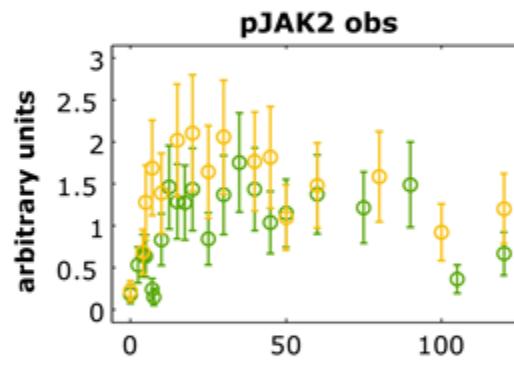
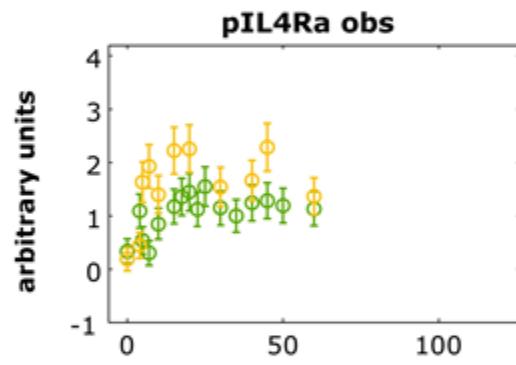
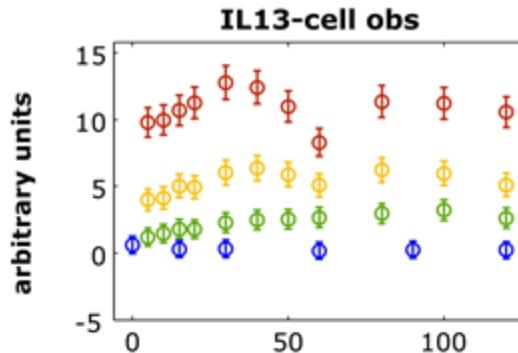
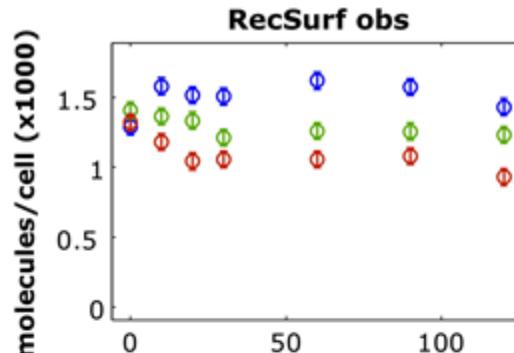
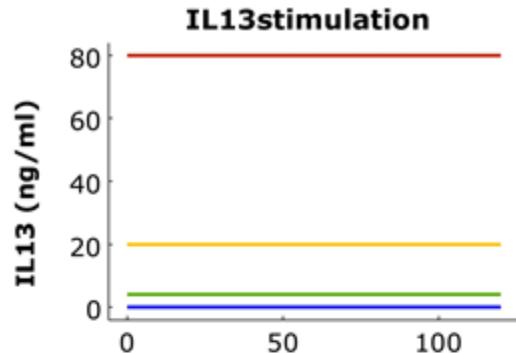
Beobachtungsfunktionen des mathematischen Modells



Beobachtungsfunktionen

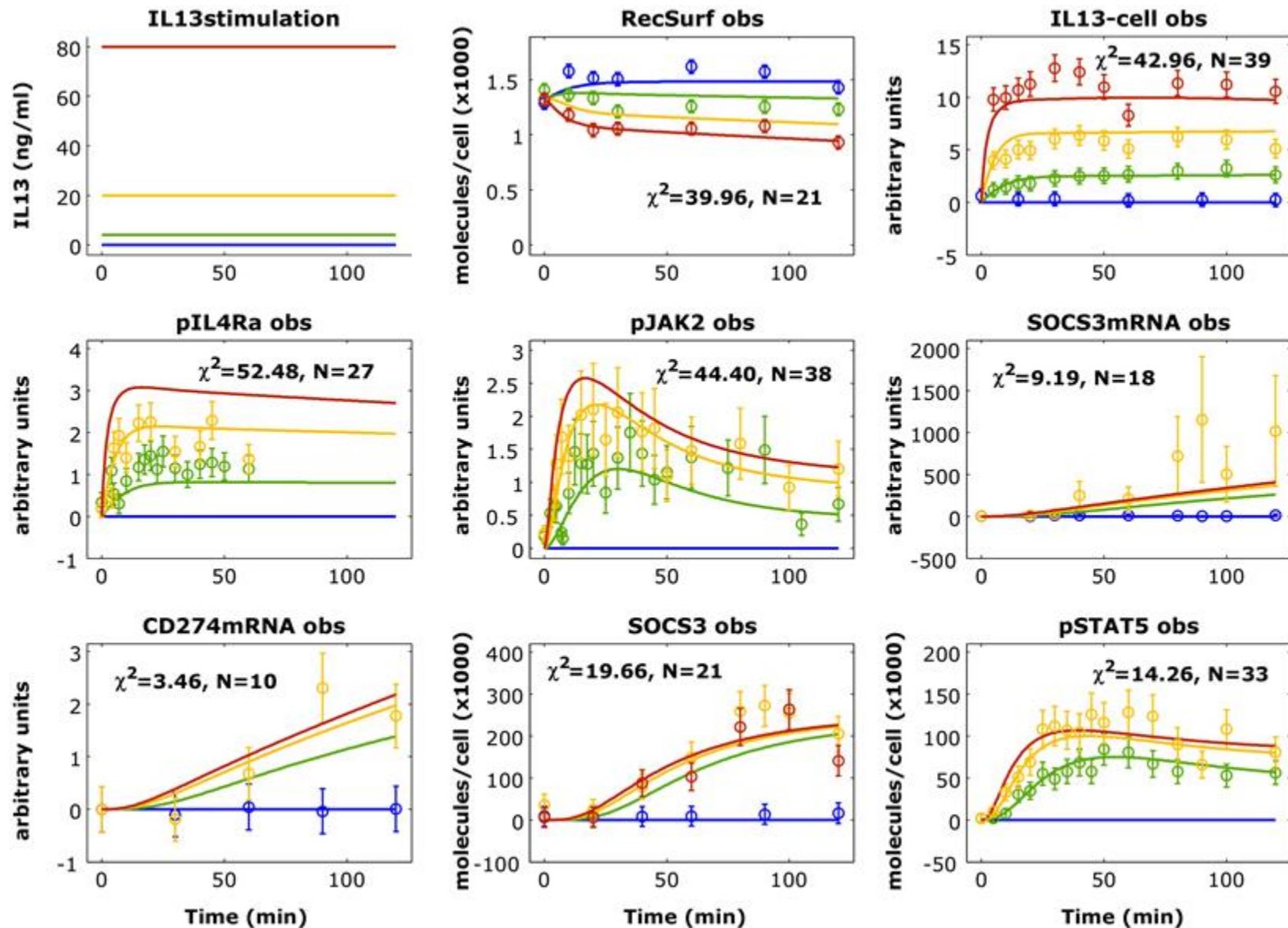
- Zelluläres IL13
- IL4Ra auf Zelloberfläche
- pIL4Ra
- pJAK2
- pSTAT5
- CD274 und SOCS3 mRNA
- SOCS3

Quantitative, zeitaufgelöste Daten



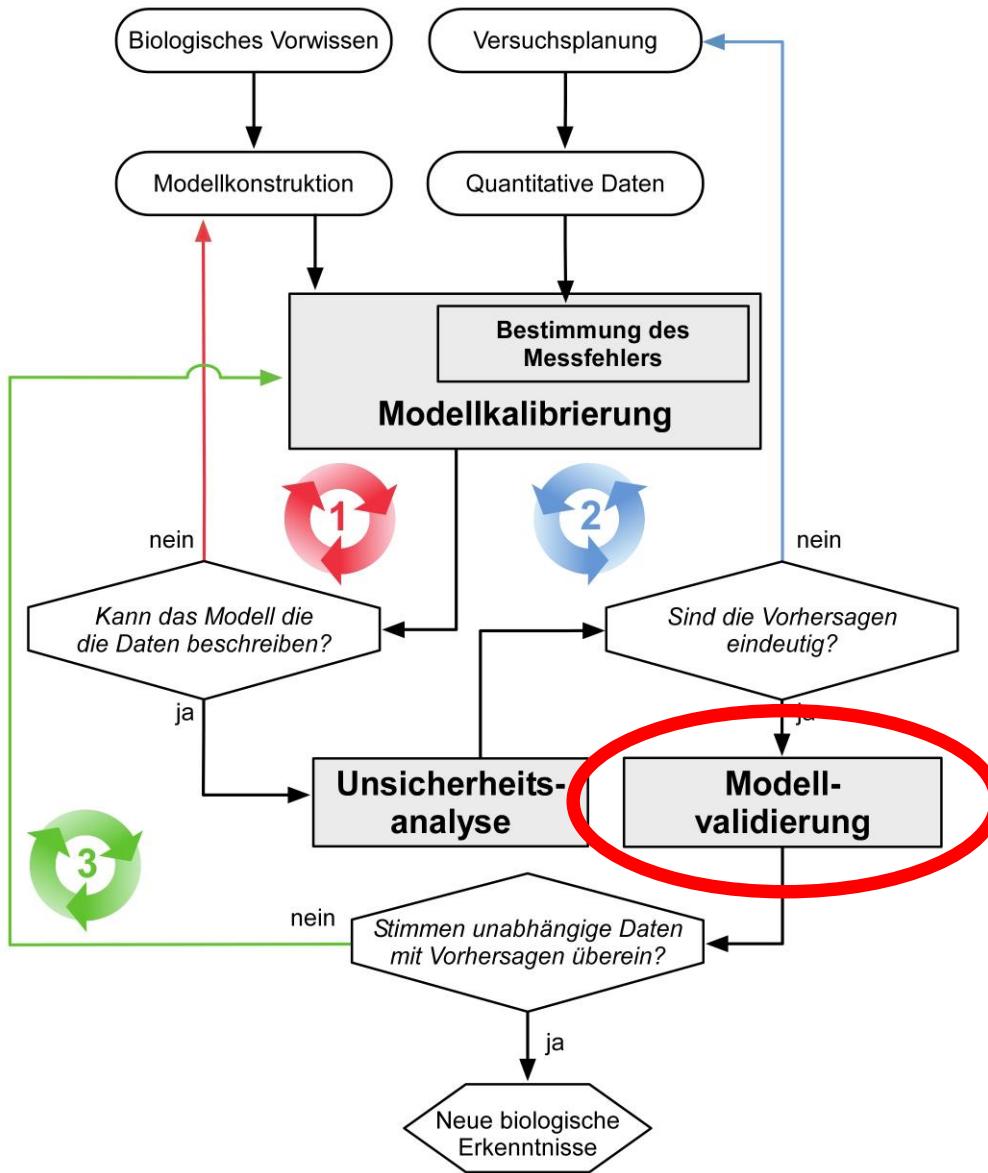
Anzahl Datenpunkte = 207

Simulation des mathematischen Modells



Anzahl Datenpunkte = 207, Parameter = 23, $\chi^2 = 226.35$

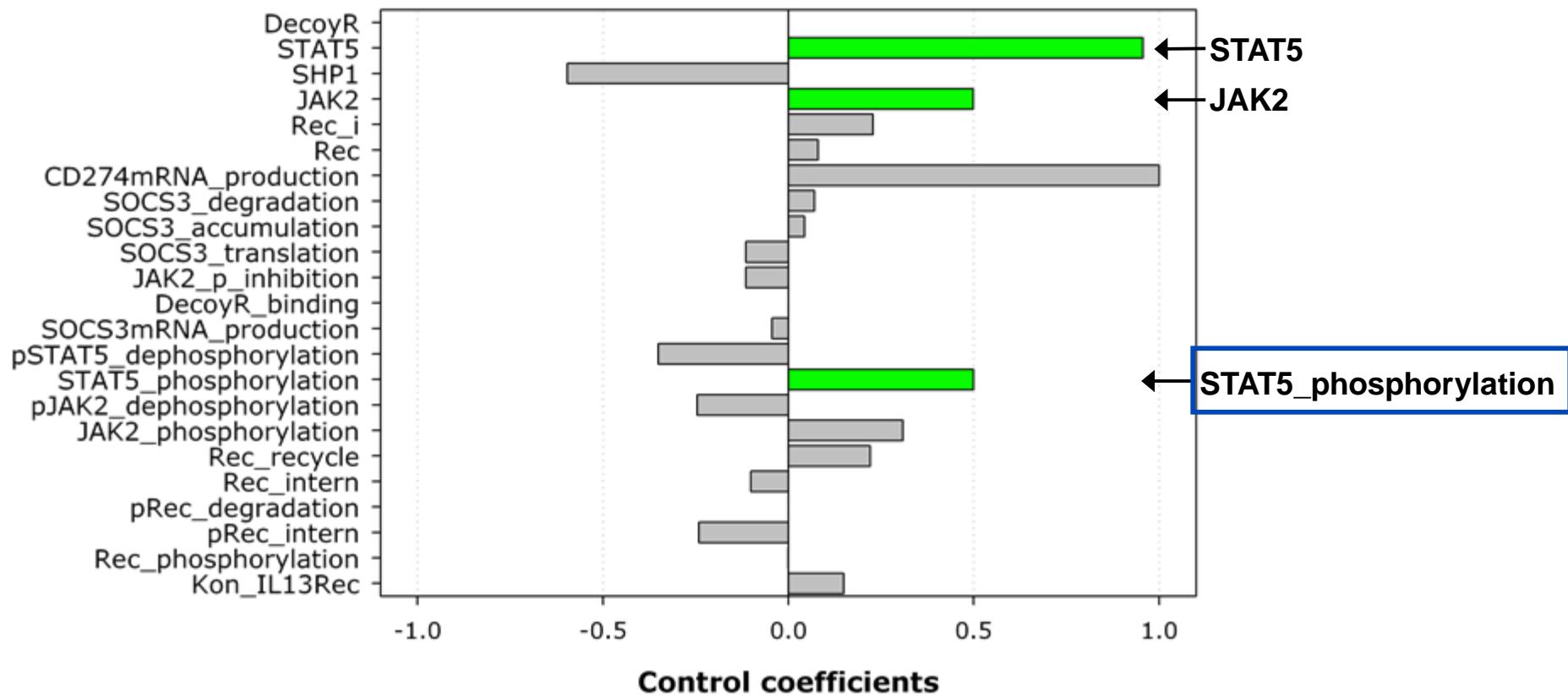
Quantitative dynamische Modellierung



Sensitivitätsanalyse der Parameter

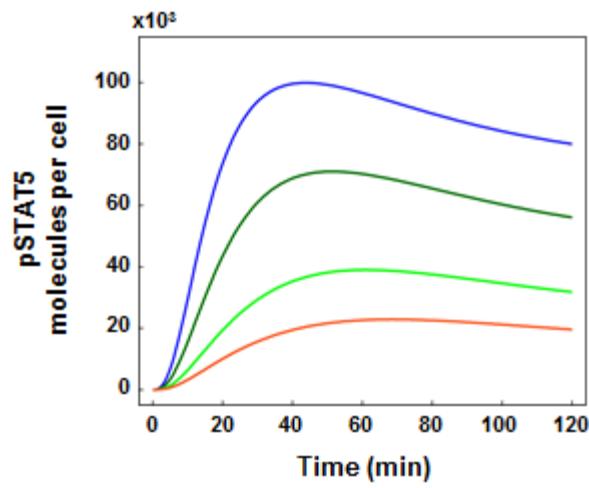
$$S_{p_i}^K = \frac{p_i}{K} \cdot \frac{\partial K}{\partial p_i}$$

Relative Veränderungen von der Systemeigenschaft K
(hier das Integral der CD274mRNA) nach relativen
Veränderungen der Parameterwerte p_i



Modellvalidierung: Inhibition des STAT5-Phosphorylierungs-Parameter

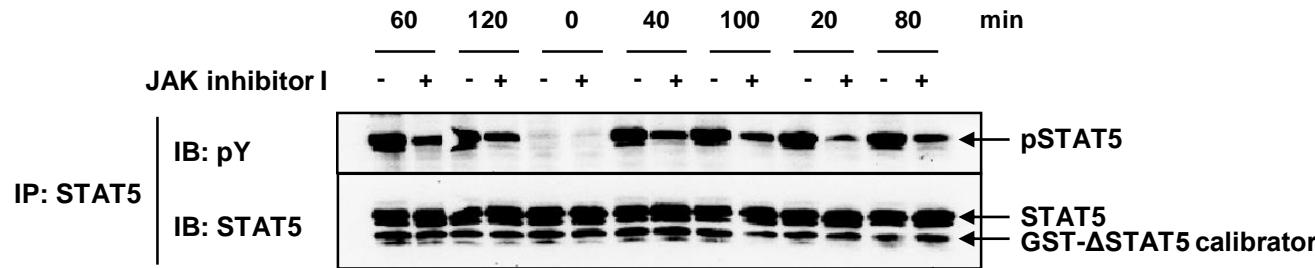
Modellvorhersagen



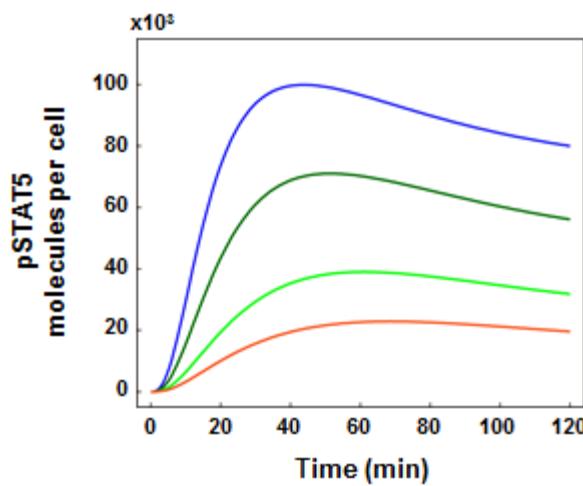
STAT5 phosphorylation:

- No reduction
- 50% reduction
- 80% reduction
- 95% reduction

Modellvalidierung: Inhibition des STAT5-Phosphorylierungs-Parameter



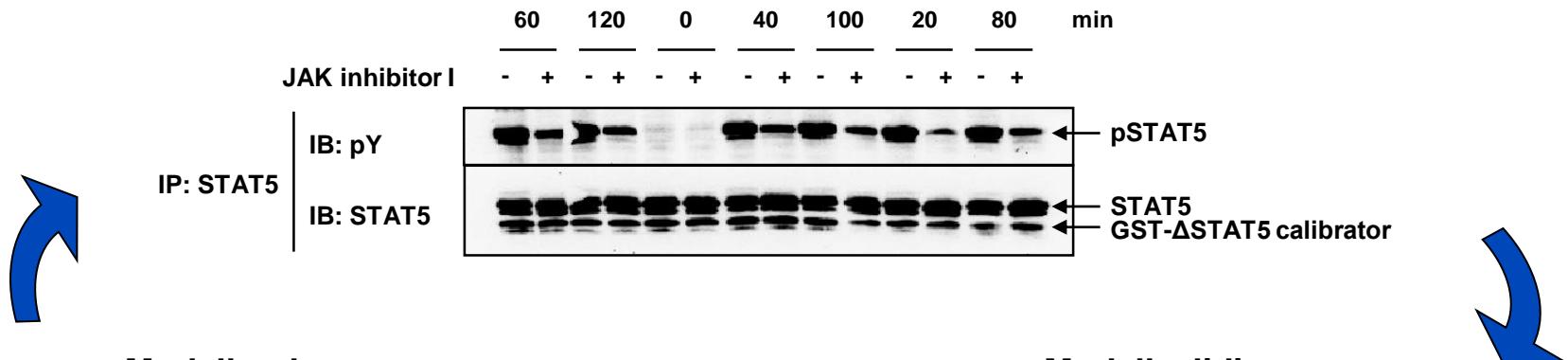
Modellvorhersagen



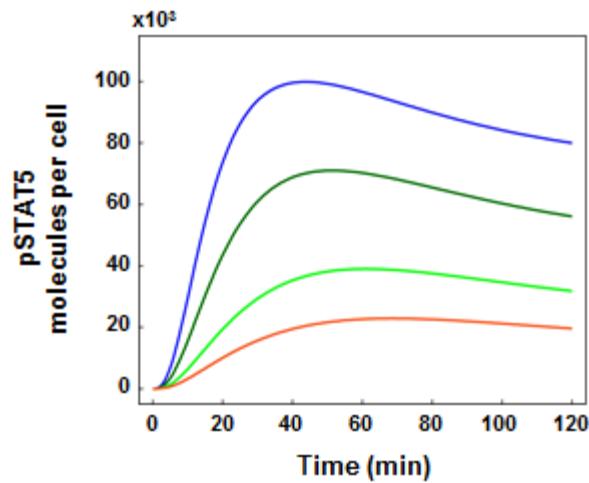
STAT5 phosphorylation:

- No reduction
- 50% reduction
- 80% reduction
- 95% reduction

Modellvalidierung: Inhibition des STAT5-Phosphorylierungs-Parameter



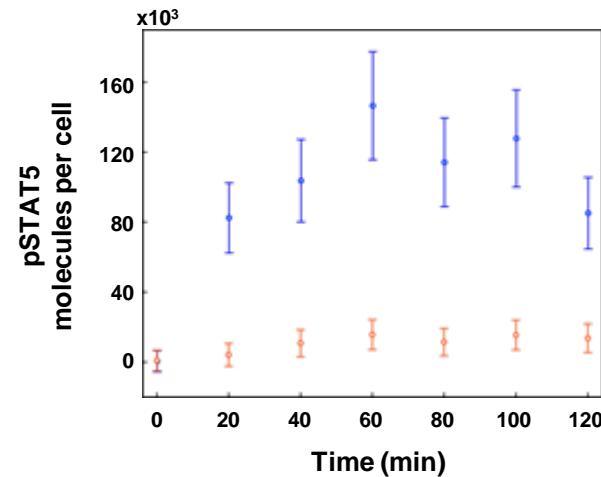
Modellvorhersagen



STAT5 phosphorylation:

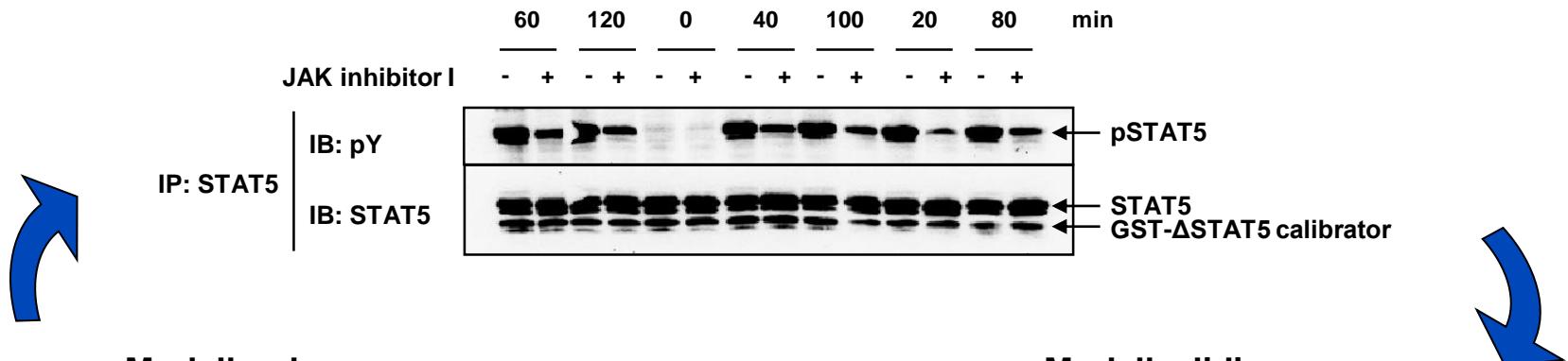
- No reduction
- 50% reduction
- 80% reduction
- 95% reduction

Modellvalidierung

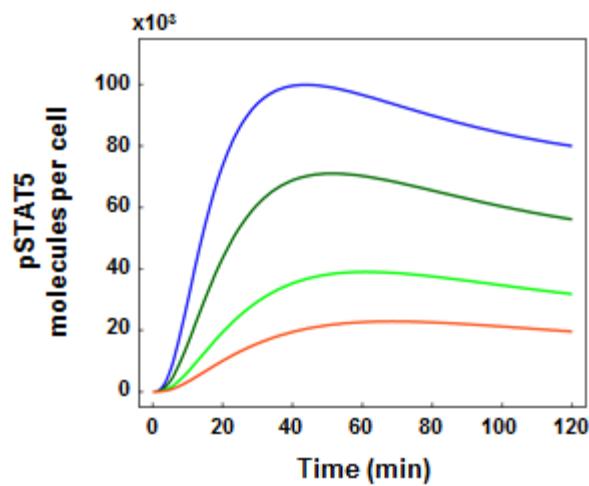


- Data – DMSO
- Data – JAK inhibitor I

Modellvalidierung: Inhibition des STAT5-Phosphorylierungs-Parameter



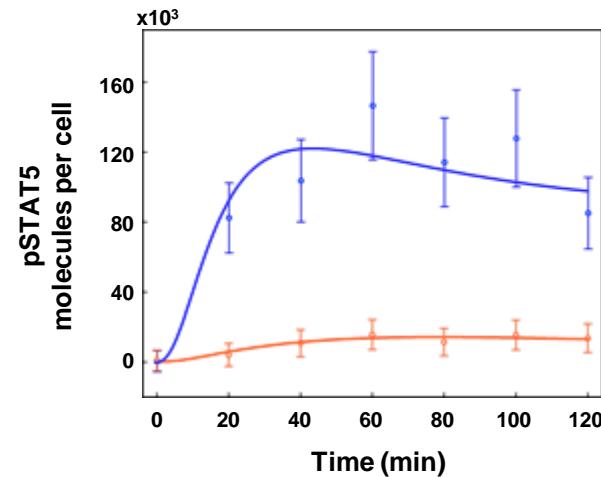
Modellvorhersagen



STAT5 phosphorylation:

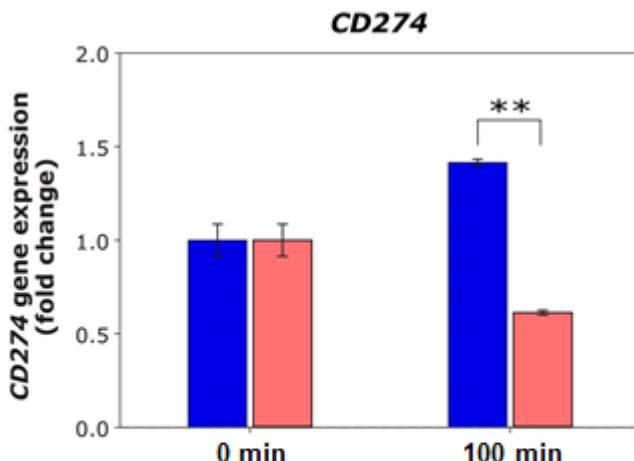
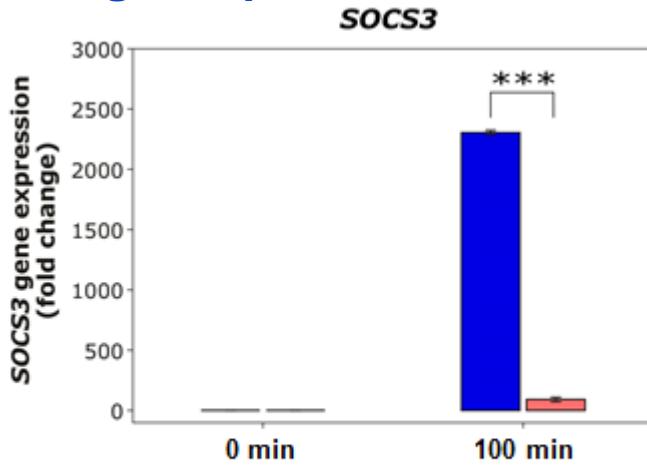
- No reduction
- 50% reduction
- 80% reduction
- 95% reduction

Modellvalidierung



Modellvalidierung: Inhibition der STAT5-Phosphorylierung

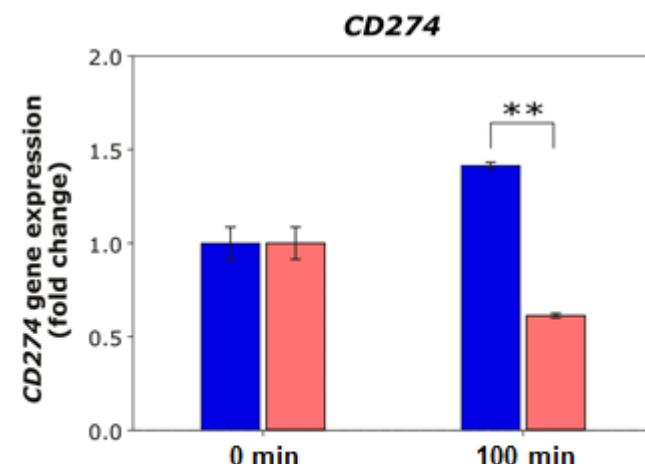
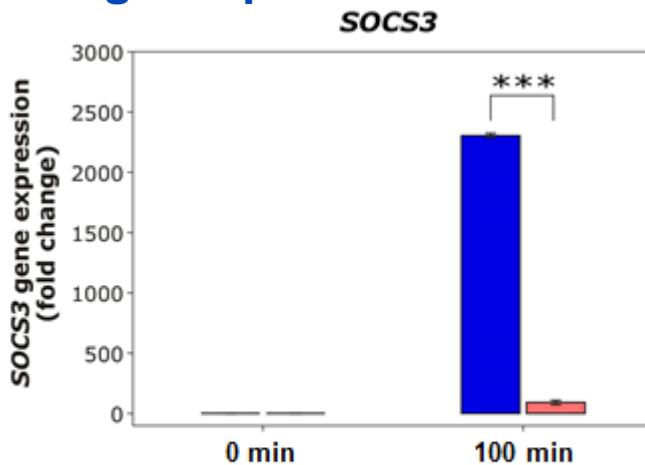
Zielgenexpression



■ DMSO
■ JAK inhibitor I

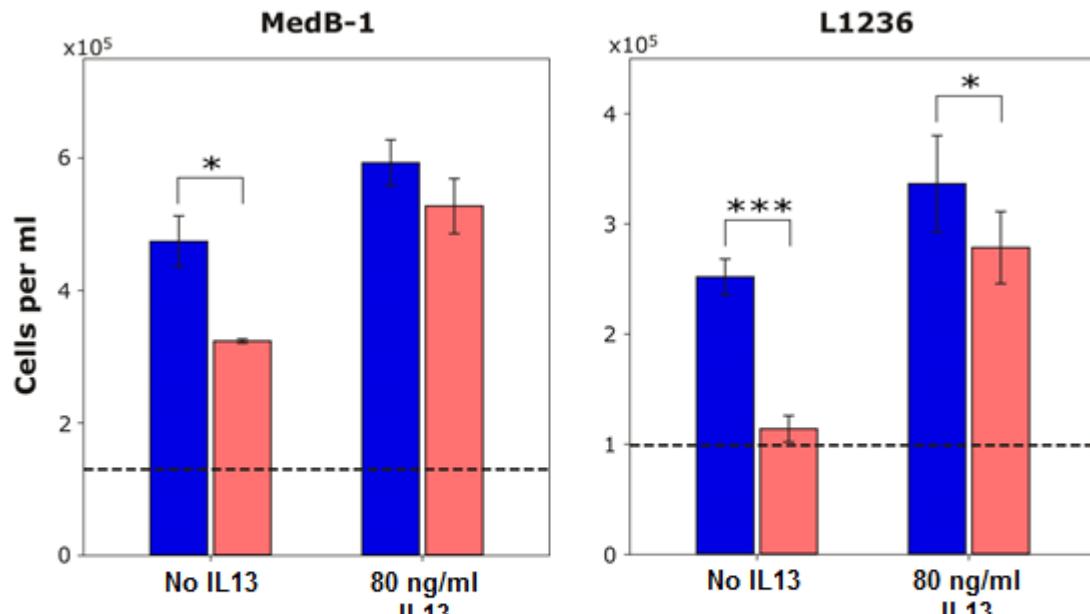
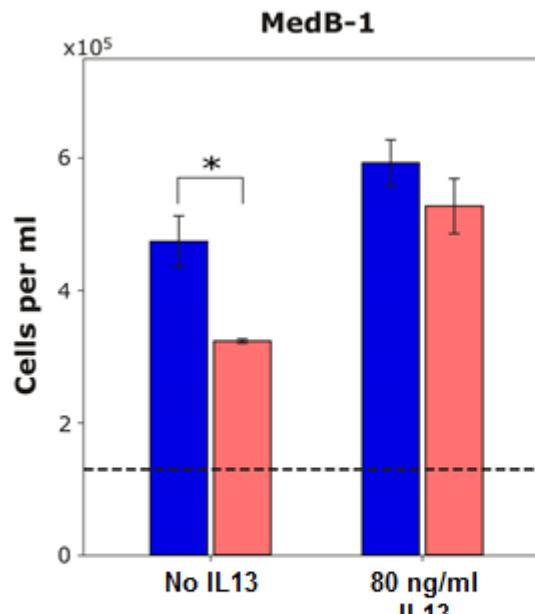
Modellvalidierung: Inhibition der STAT5-Phosphorylierung

Zielgenexpression



■ DMSO
■ JAK inhibitor I

Proliferation



■ DMSO
■ JAK inhibitor I
--- Number of seeded cells per ml

- Verringerte Genexpression
- Reduzierte Zellproliferation

Quantitative dynamische Modellierung

