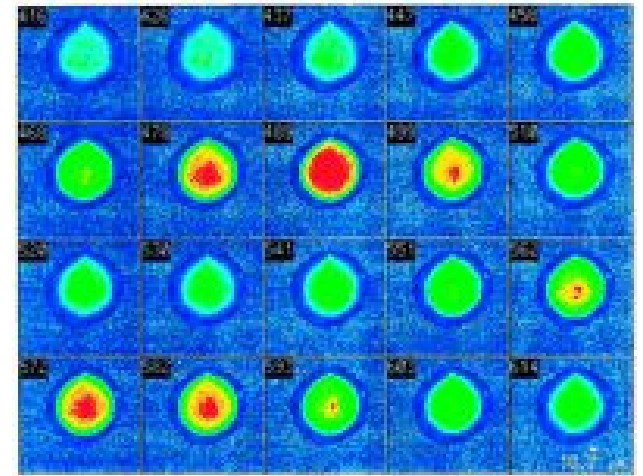


Einführung in die Systembiologie

Calciumoszillationen und -wellen, Stochastizität

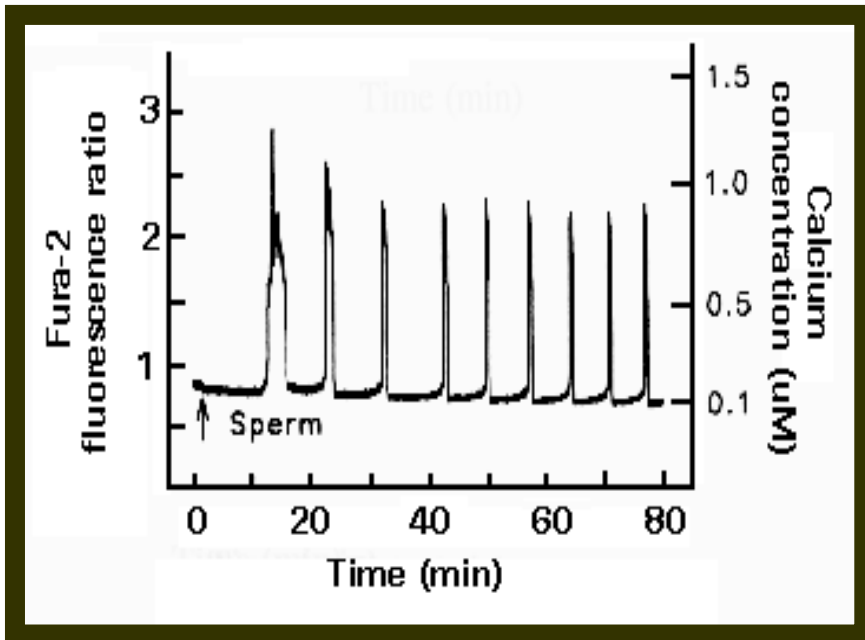
Ursula Kummer



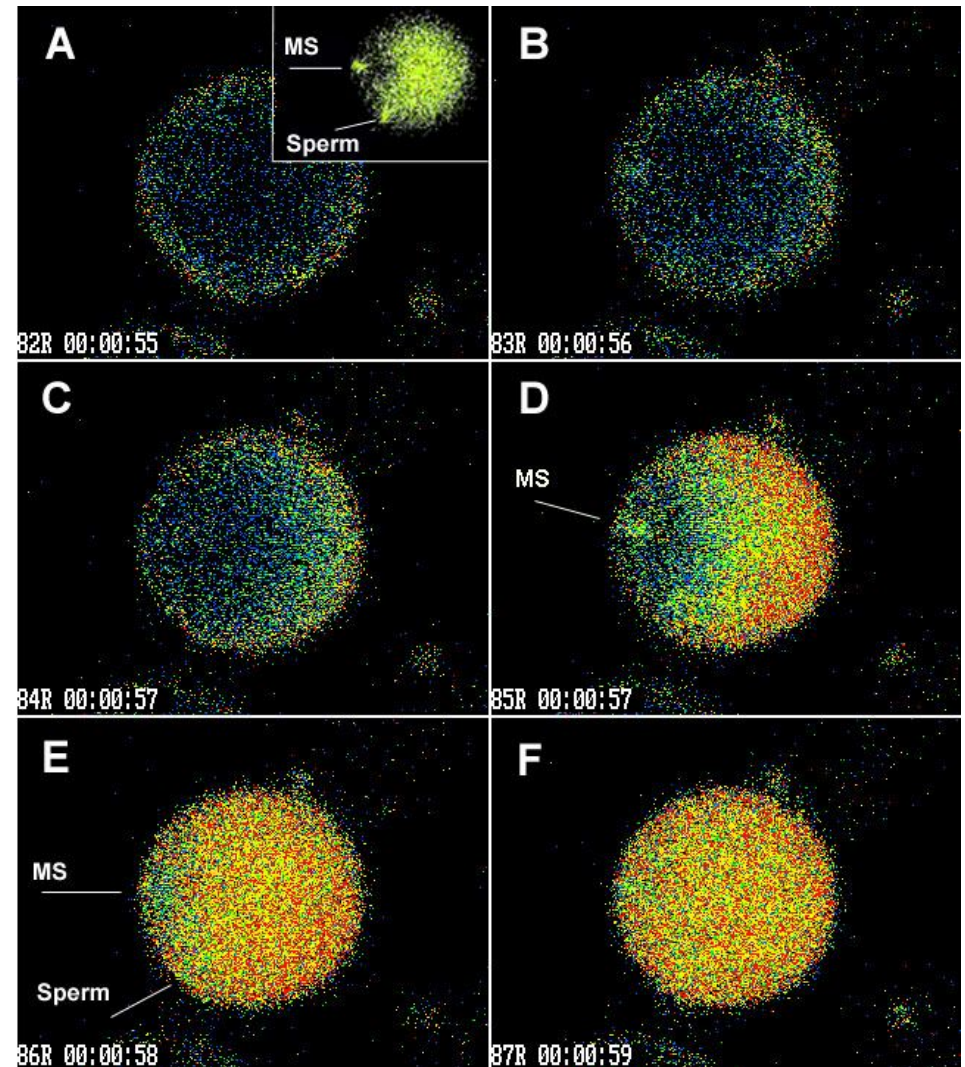
Chiu et al., Hum. Reprod. (2003) 18 (2): 408-416.

Wiederholung

Calciumsignaltransduktion während der Fertilisation



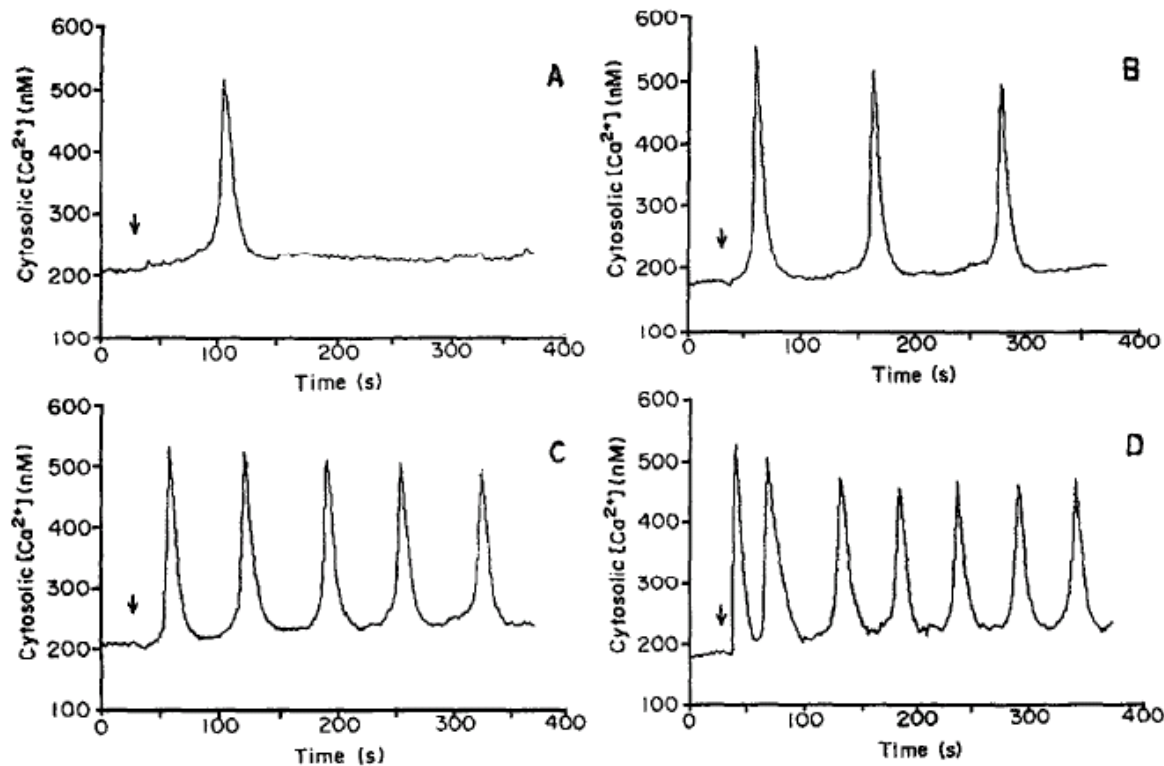
Kline D., Theriogenology, 1996, vol. 45, 81-90



Chris Fox (www.kent.edu/projects/cell)

Calciumsignaltransduktion in Leberzellen I

Die Konzentration des Agonisten bestimmt die Antwort
-> Frequenzkodierung



Weniger Agonist

- > Unterstimulierte Zellen
- > Calcium im Ruhezustand
- > Niedriges konstantes Niveau

Deutlich mehr Agonist

- > Überstimulierte Zellen
- > Hoher konstanter Calciumlevel
- > Apoptosis

Fig. 1 Dose dependence of phenylephrine-induced $[Ca^{2+}]_i$ oscillations in a single hepatocyte.

The effects of sequential challenges with increasing phenylephrine concentrations on the $[Ca^{2+}]_i$ response obtained in a single Fura-2-loaded hepatocyte are shown. The doses of agonist used are 0.5 (A), 2.0 (B), 5.0 (C) and 10 μ M (D) with the points of addition indicated by the arrow on each trace. Reproduced with permission from [24]

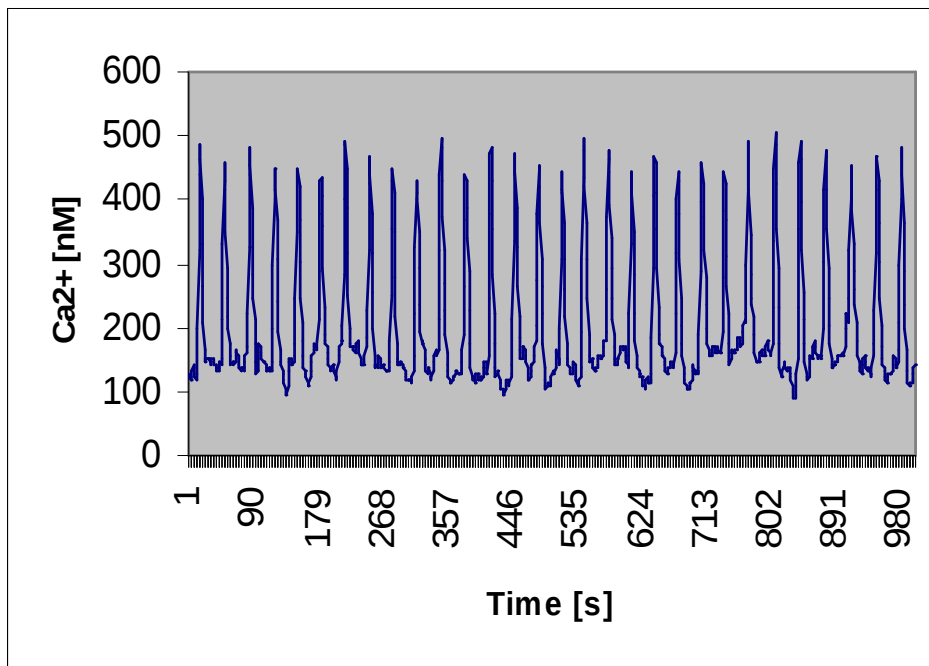
(Thomas et al., Cell Calcium, 1991)

Calciumsignaltransduktion in Leberzellen II

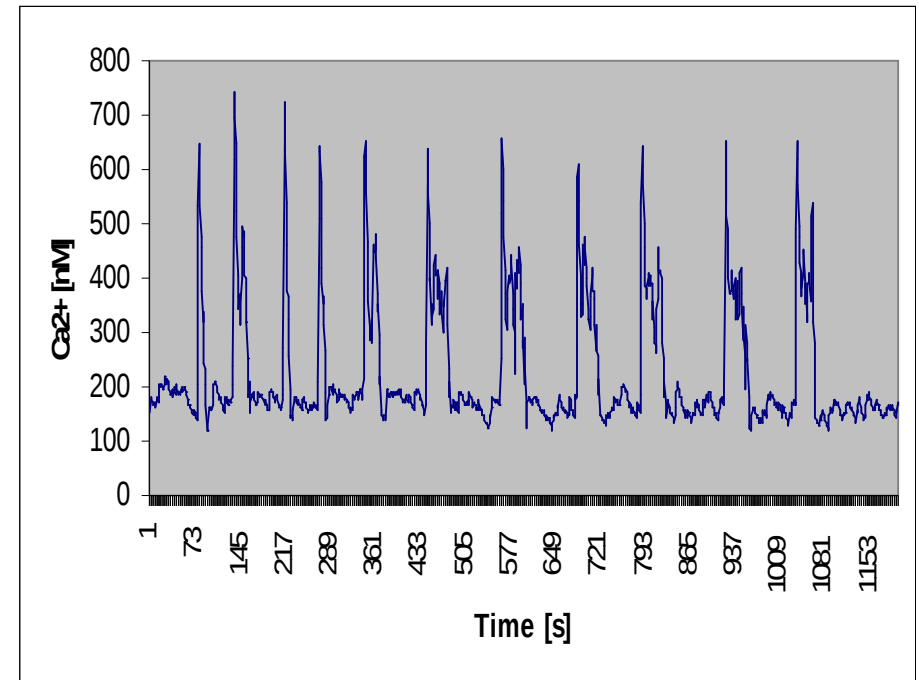
Die Art des Agonisten ist ebenfalls bestimmend

-> Formkodierung

a) Phenylephrine

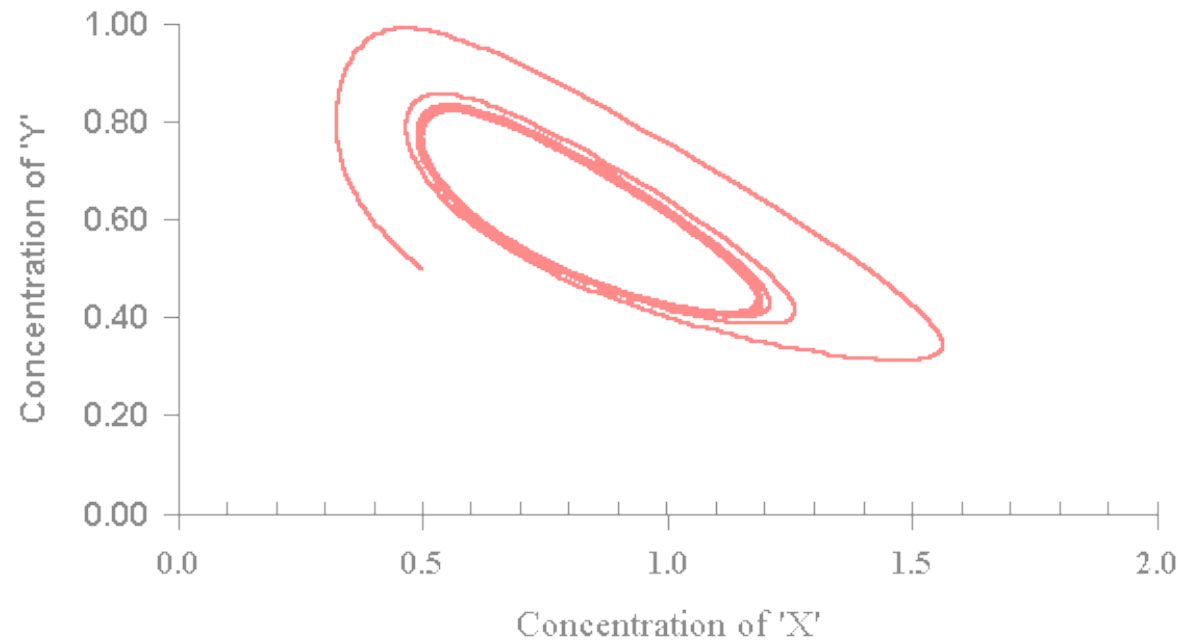
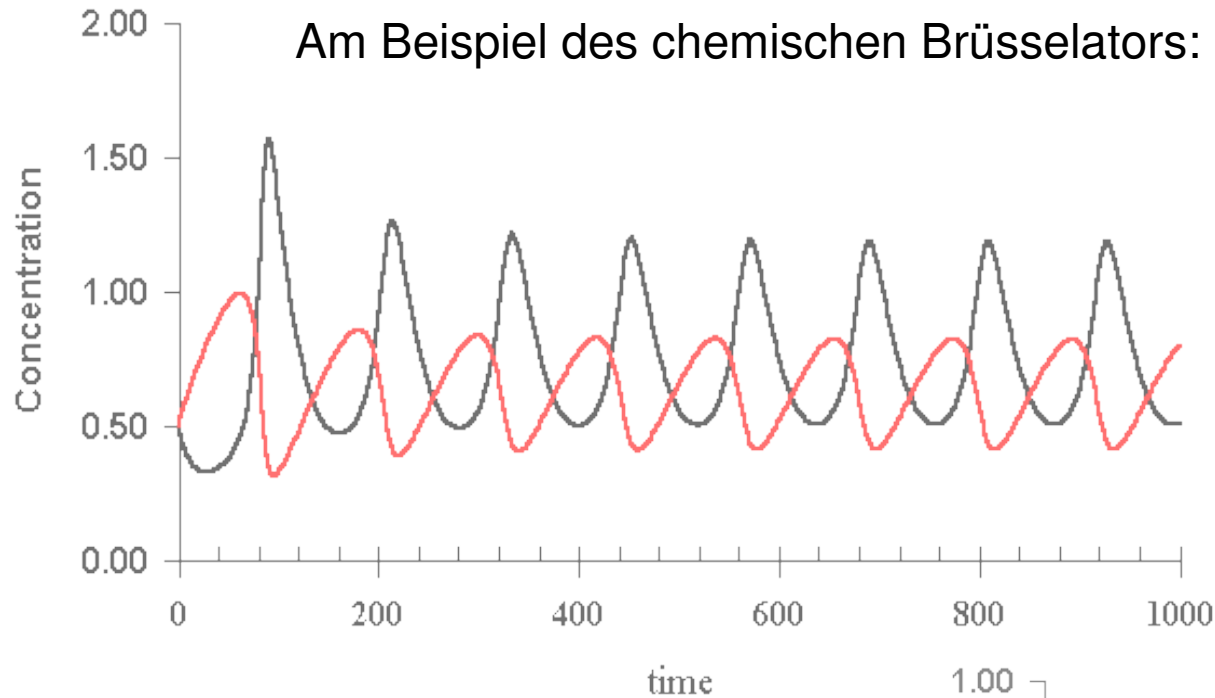


b) ATP



Der Phasenraum:

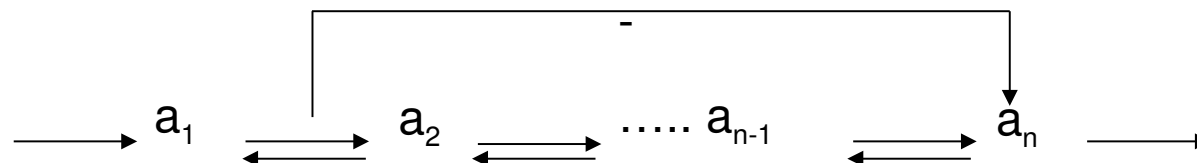
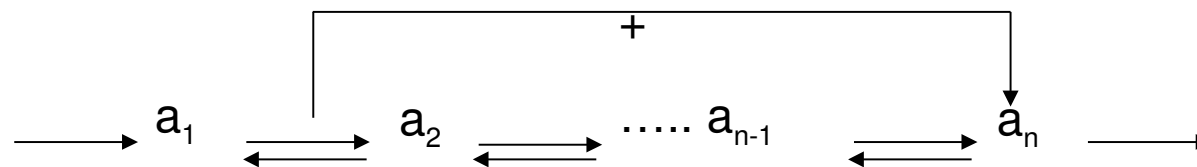
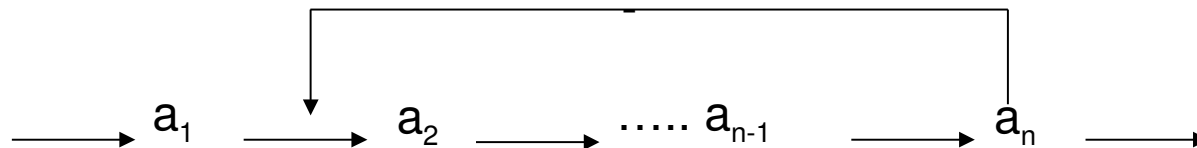
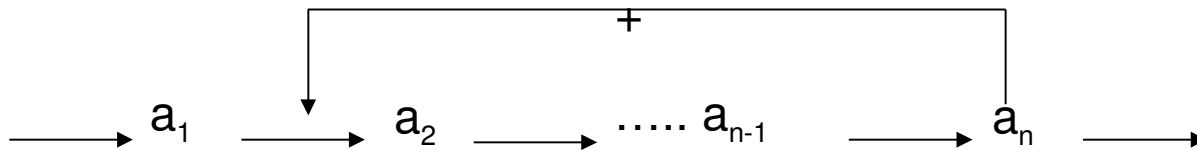
Am Beispiel des chemischen Brüsselators:



Wann gibt es Oszillationen?

Goldene Regel:

Immer dann, wenn ein feedback existiert,
der nicht unmittelbar ist.



Computermodelle

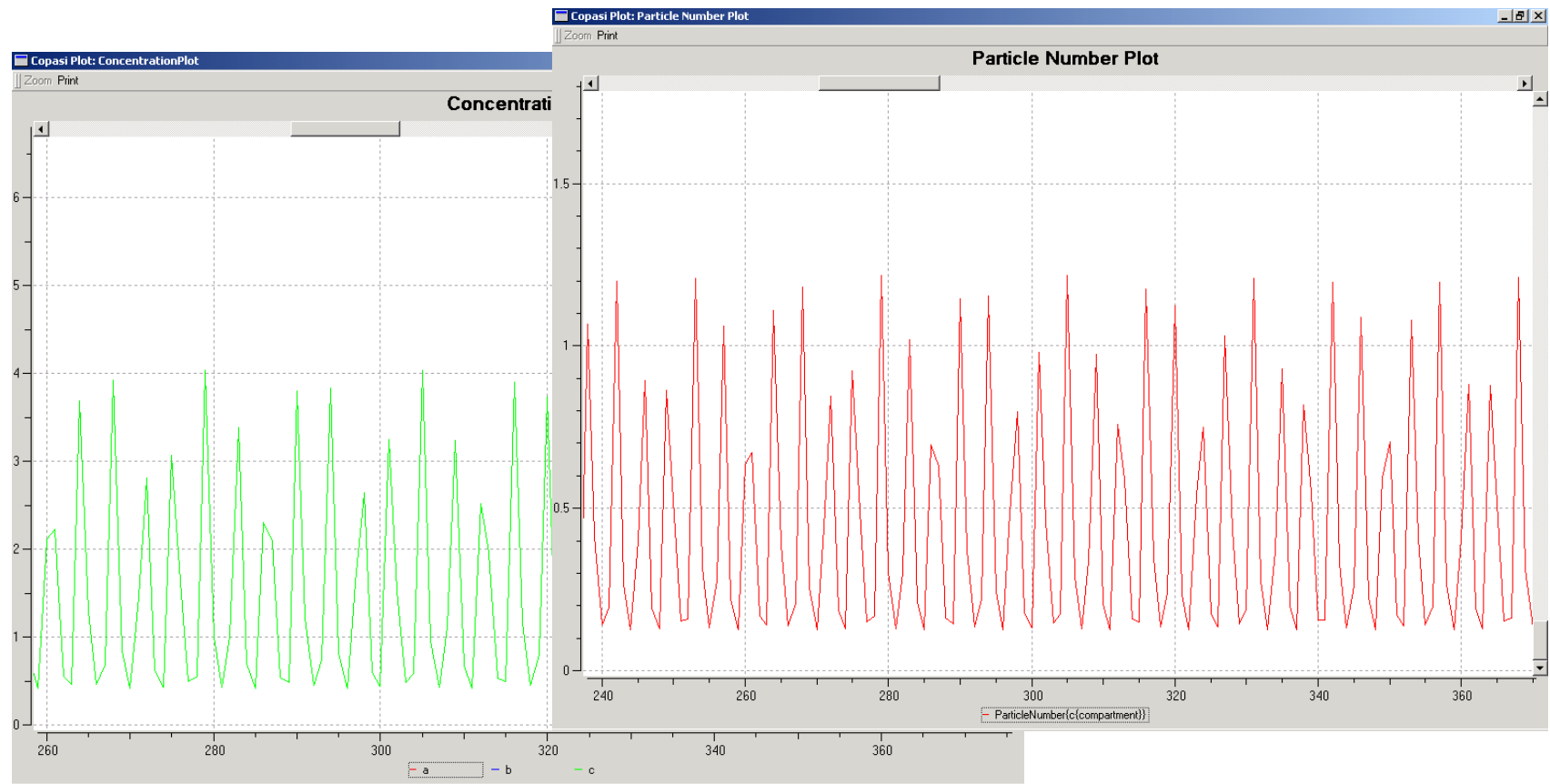
▼

$$\begin{aligned}\frac{dG_{\alpha}}{dt} &= k_1 + k_2 \cdot G_{\alpha} - \frac{k_3 \cdot PLC \cdot G_{\alpha}}{(K_4 + G_{\alpha})} - \frac{k_5 \cdot [Ca^{2+}] \cdot G_{\alpha}}{(K_6 + G_{\alpha})} & G_{\alpha}(t_0) &= 0.01 \text{ nmol} \\ \frac{dPLC}{dt} &= k_7 \cdot G_{\alpha} - \frac{k_8 \cdot PLC}{(K_9 + PLC)} & PLC(t_0) &= 0.01 \text{ nmol} \\ \frac{d[Ca^{2+}]}{dt} &= k_{10} \cdot G_{\alpha} - \frac{k_{11} \cdot [Ca^{2+}]}{(K_{12} + [Ca^{2+}])} & [Ca^{2+}](t_0) &= 0.01 \text{ nmol}\end{aligned}$$

Stark vereinfachtes Modell, das nicht quantitativ die Realität wiedergibt, aber qualitativ die Dynamik gut beschreibt.

Wenn ODEs nicht mehr funktionieren.....

kleine Teilchenzahlen -> keine kontinuierlichen Konzentrationen
-> hohe Stochastizität

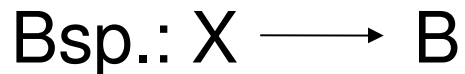


Monte-Carlo-Simulationen

- diskreter Ansatz
- es werden nicht die Konzentrationsänderungen eines Stoffes, sondern die Änderung der Teilchenzahl berechnet
- da auf Teilchenebene in (bio)chemischen Systemen der stochastische Einfluß groß ist (Brownsche Bewegungen etc.) wird bei kleiner Teilchenzahl der stochastischer Ansatz gewählt
- ausserdem besteht die Gefahr von halben Teilchen etc.!

Die stochastische Reaktionswahrscheinlichkeit

$w_j \cdot dt$ beschreibt die durchschnittliche Wahrscheinlichkeit, daß eine einzelne Reaktion vom Typ j im nächsten Zeitintervall dt stattfindet



w für den Übergang $n \longrightarrow n-1$: $w_{(n-1)n} \sim n$

$$\text{oder } w_{(n-1)n} = k \cdot V \cdot c_x$$



w für den Übergang $n \longrightarrow n+1$: $w_{(n+1)n} \sim n \cdot (n-1) \cdot c_A$

Gillespie-Algorithmus

- beinhaltet die Simulation der Trajektorien wie oben beschrieben.
- für dieses stochastische Verfahren wurde als einzigem gezeigt, daß es für eine hohe Zahl von durchgeführten Experimenten tatsächlich mit der deterministischen Lösung übereinstimmt.

Gillespie-Algorithmus

(1) Zunächst wird die totale Reaktionswahrscheinlichkeit $u_0(n)$ berechnet. Diese ist die Summe aller Wahrscheinlichkeiten für die j möglichen, individuellen Reaktionen:

$$u_0(n) = \sum_j w_j$$

(2) Der stochastische Zeitschritt wird nach

$$\Delta t = -\frac{\ln(\xi_1)}{u_0(n)}$$

berechnet, wobei ξ_1 eine über $[0,1]$ gleichverteilte Zufallszahl ist.

(3) Nun muß berechnet werden, welche Reaktion α stattfindet. Dazu wird eine zweite über $[0,1]$ gleichverteilte Zufallszahl ξ_2 generiert und die Reaktion α nach folgendem Kriterium gewählt.

$$\sum_{j=1}^{r-1} \frac{w_j}{u_0(n)} \leq \xi_2 \leq \sum_{j=1}^r \frac{w_j}{u_0(n)}$$

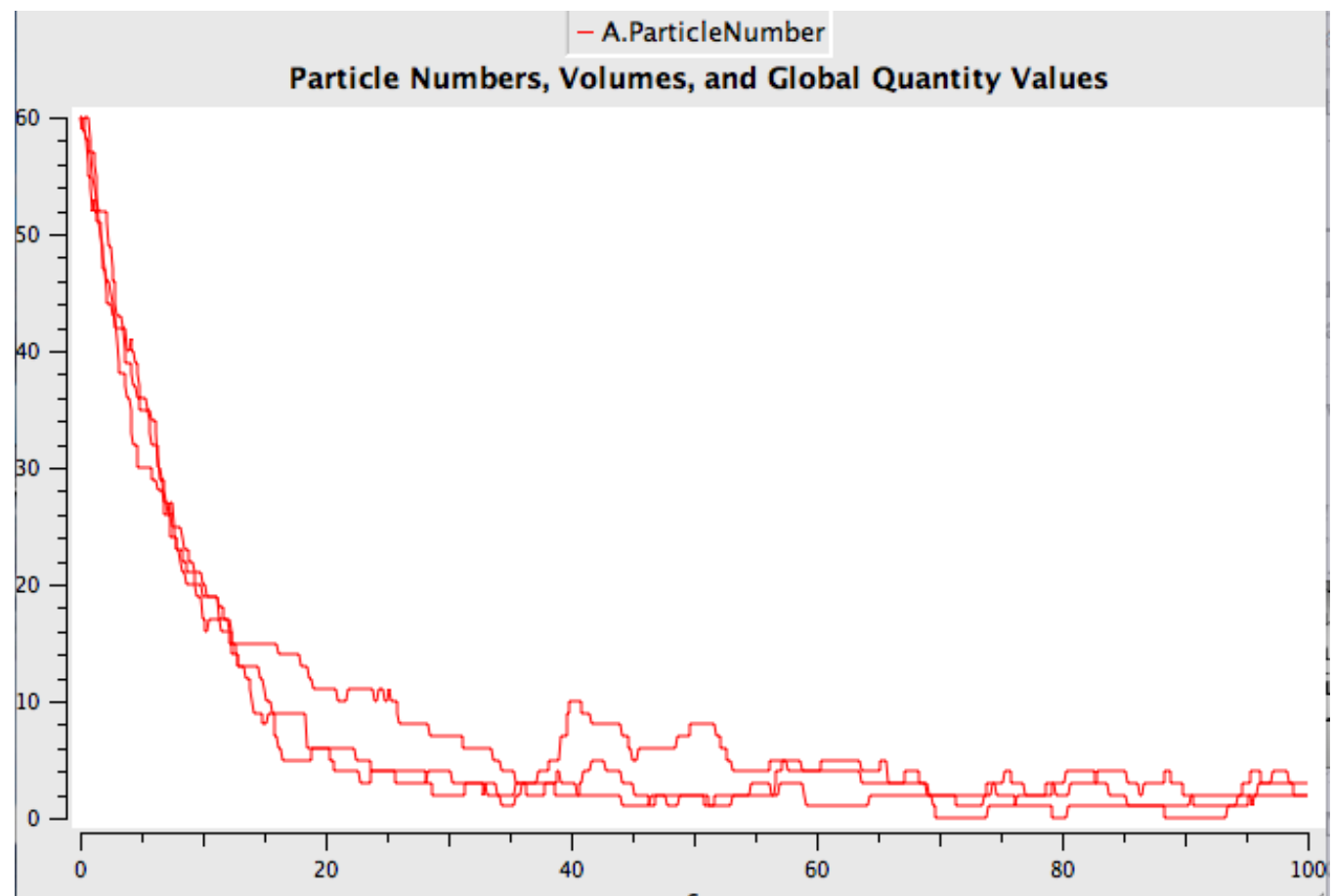
Die entsprechende Reaktion wird dann auf Teilchenebene “durchgeführt”, d.h. die Anzahl der beteiligten Molekülspezies erniedrigt oder erhöht. Der gesamte Vorgang (1-3) wird dann so oft wiederholt, bis man die gewünschte Zeitspanne dargestellt hat.

Simulation langer Zeitreihen

- Oft ist ja gewünscht, eben nicht den im Mittel gerechneten, deterministischen Verlauf zu ermitteln, sondern das Verhalten einzelner, stochastischer Trajektorien zu ermitteln, wie es die Natur auch macht
- Fehler mitteln sich natürlich auch nicht nur über eine Menge von Zeitreihen, sondern auch mit der grossen Zahl von Molekülen und/oder grosser Zahl von Zeitschritten heraus

Verteilung / Trajektorie

Einfaches Modell : $\rightarrow A \rightarrow$



Verteilung

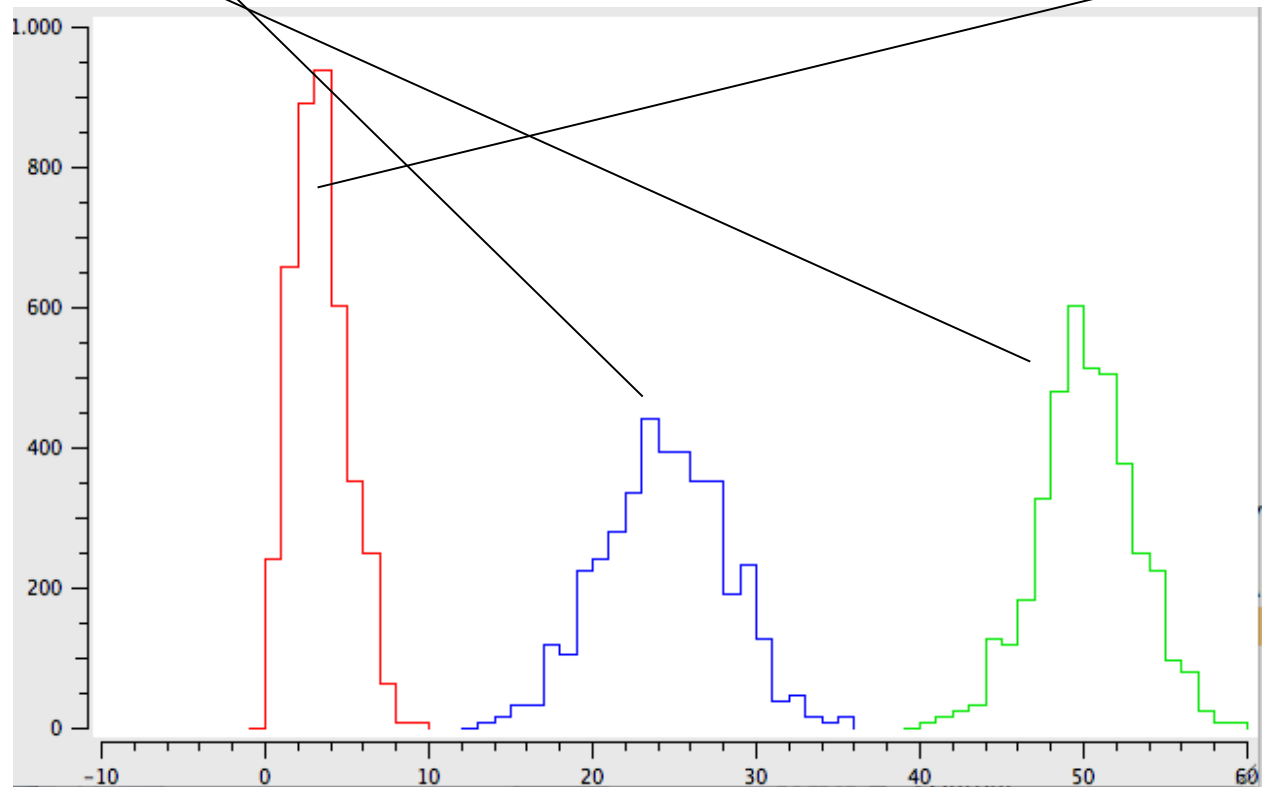
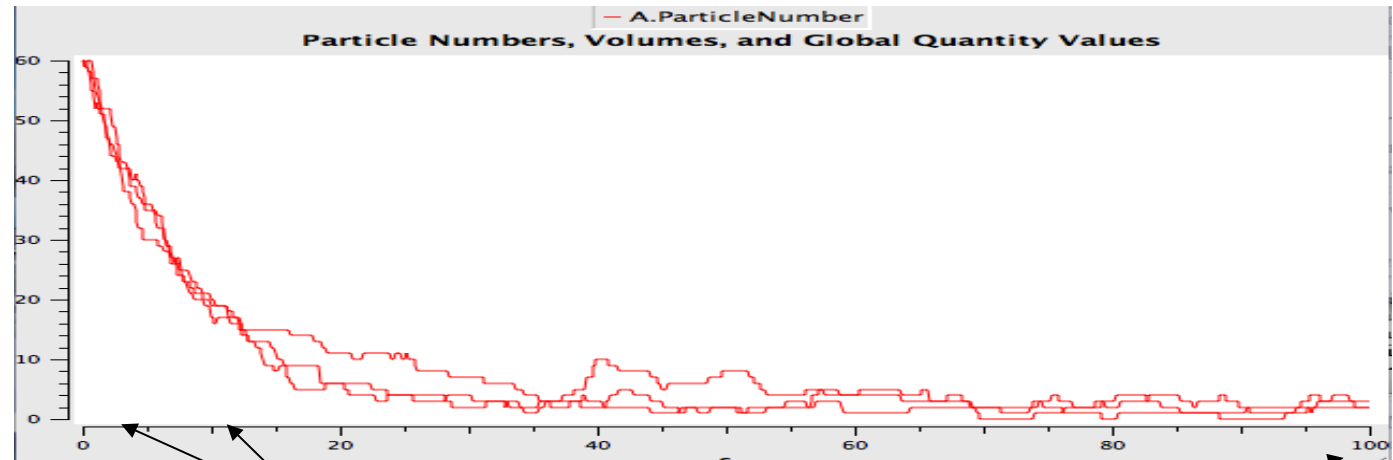
500 Simulationen

Verteilung bei

$t=2$

$t=10$

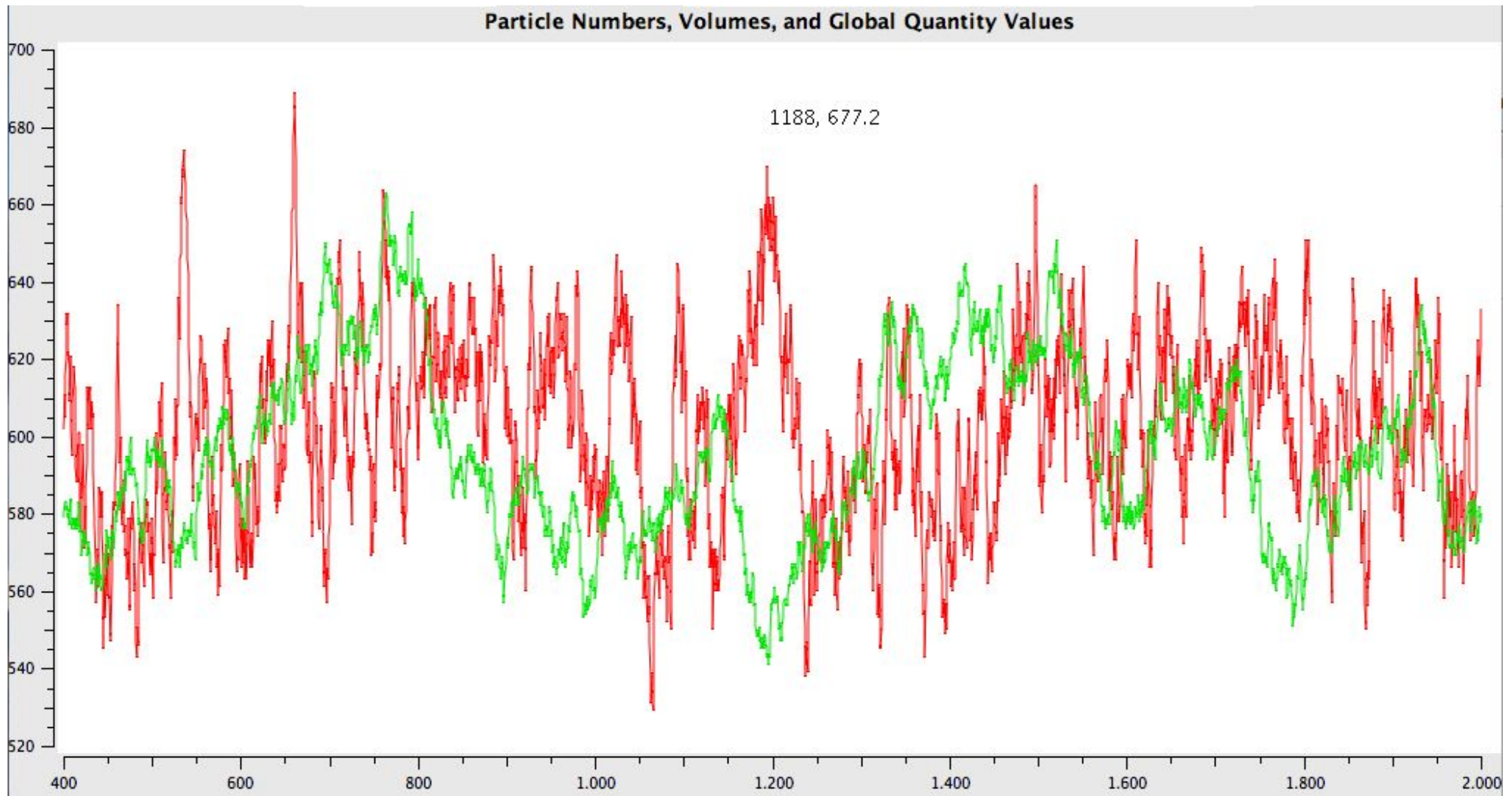
$t=100$



Verteilung

- Die Entwicklung der Verteilung ist deterministisch.
- Es ist schwierig, diese direkt zu rechnen.
- Sie beinhaltet Informationen, die ansonsten nur durch wiederholtes Simulieren und statistische Analyse der Ergebnisse gewonnen werden kann.
- Sie enthält nicht die ganze Information bzgl. der Dynamik des Prozesses

Trajektorien / Dynamik



Gleiche Verteilung, aber verschiedene Dynamik

Beispiel: Bistabilität

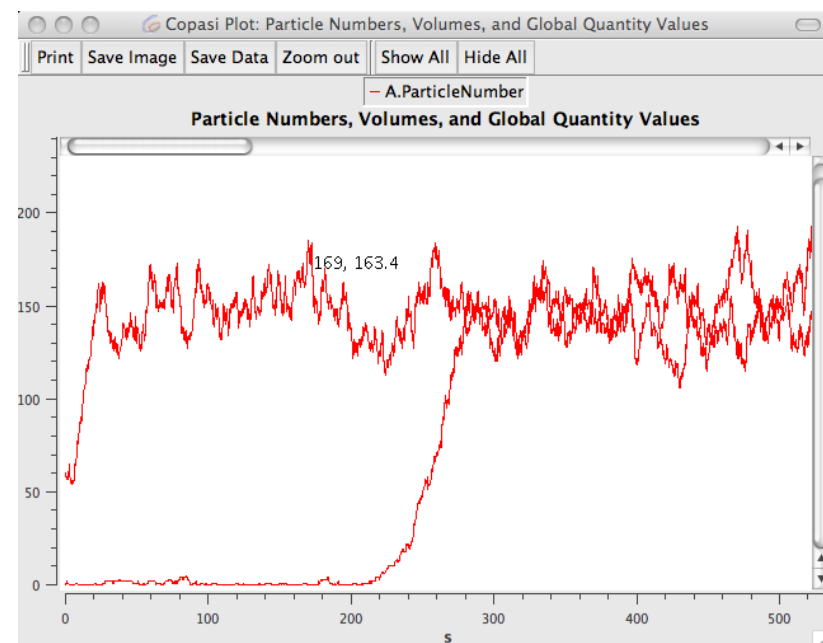
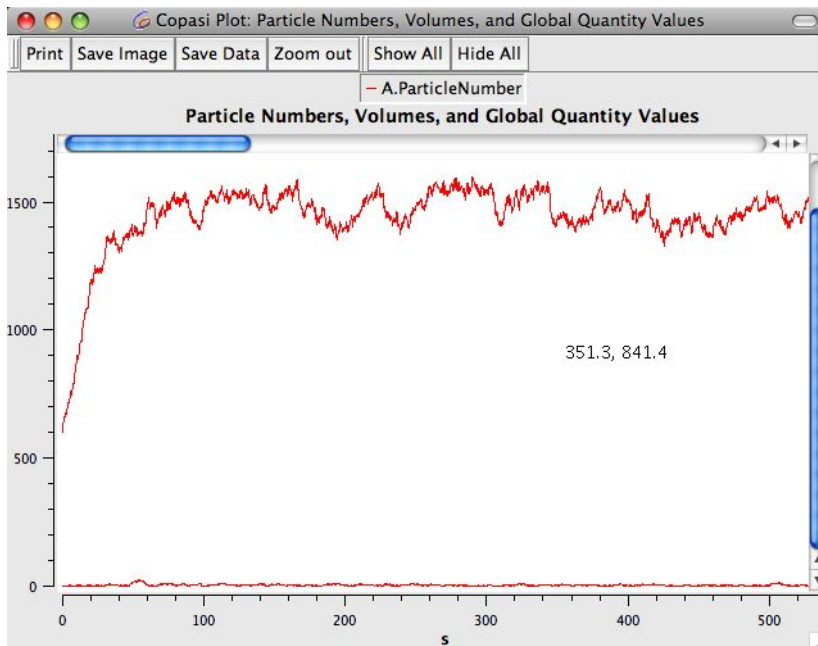
- Bistabile Systeme sind ein Beispiel für qualitative stochastische Effekte. Ein System, das in der deterministischen Simulation bistabil ist, kann Schalten oder Monostabilität in der stochastischen Simulation zeigen.
- Das wird nicht in der Verteilung wiedergegeben
- Hier ist der Durchschnitt definitiv nicht gleich der deterministischen Lösung

Bistabilität

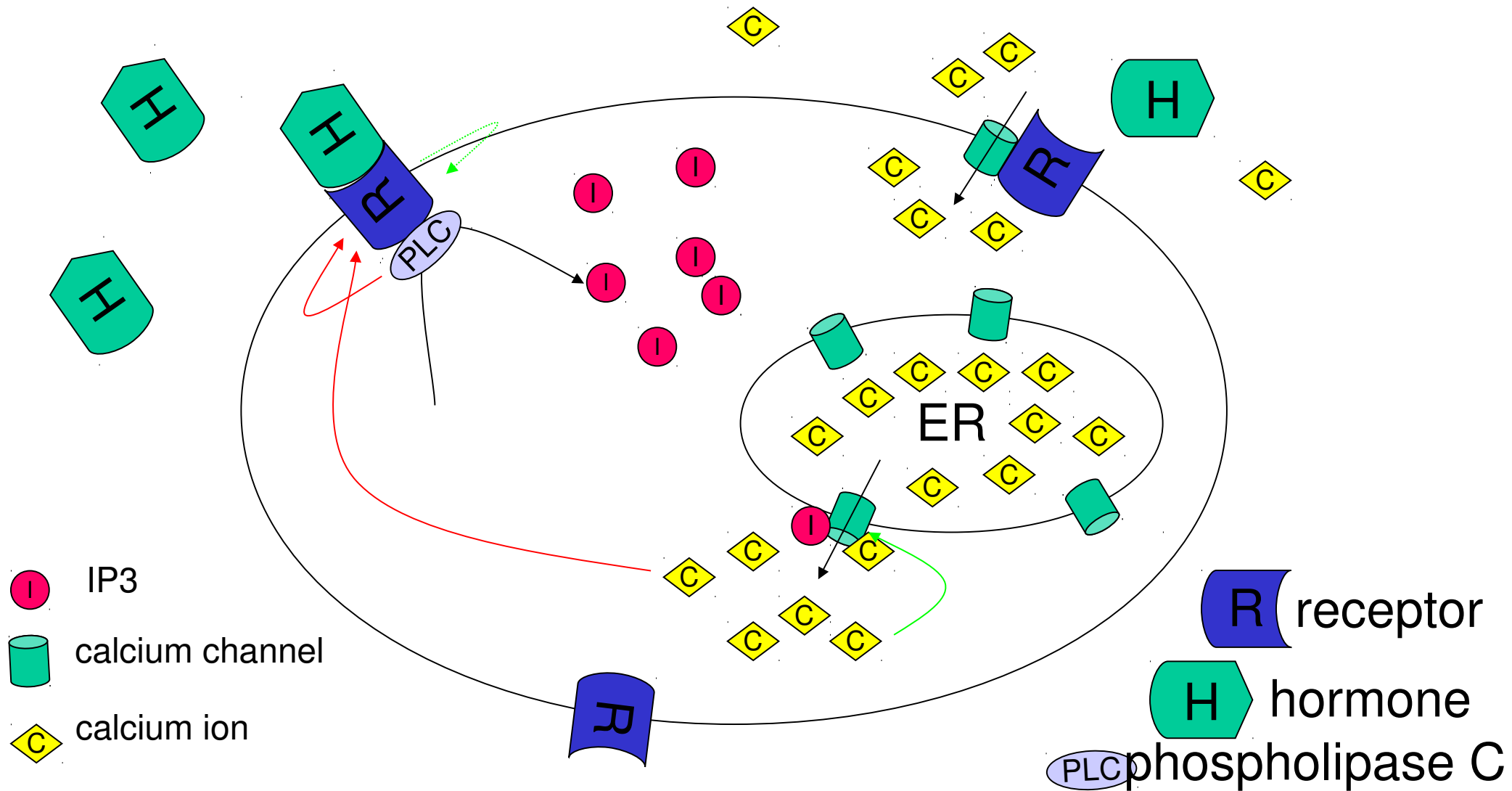
Das gleiche bistabile System zweimal simuliert:

Höhere Teilchenzahlen: Bistabilität

Kleinere Teilchenzahlen: einer der steady states
verliert die Stabilität

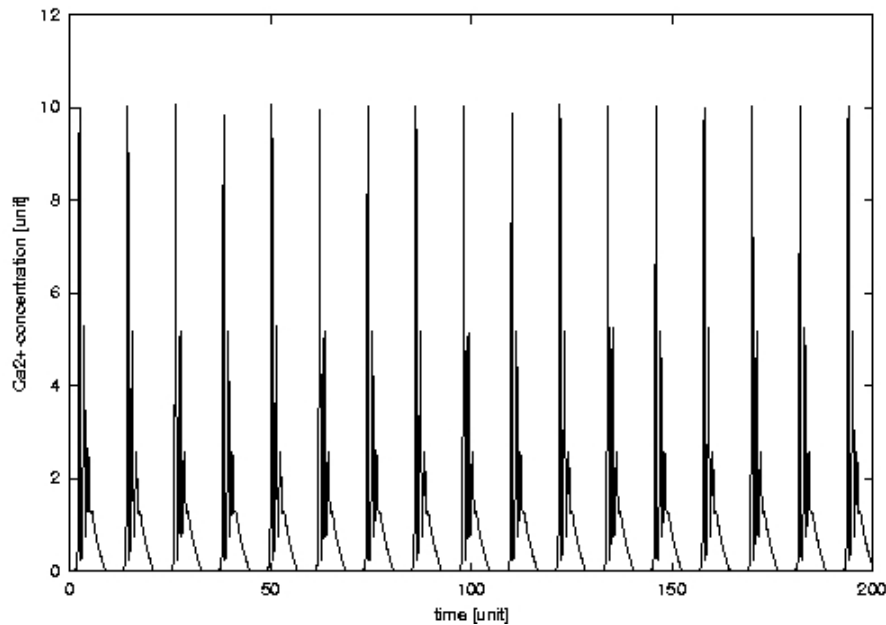


Schema: Calciumsignaltransduktion

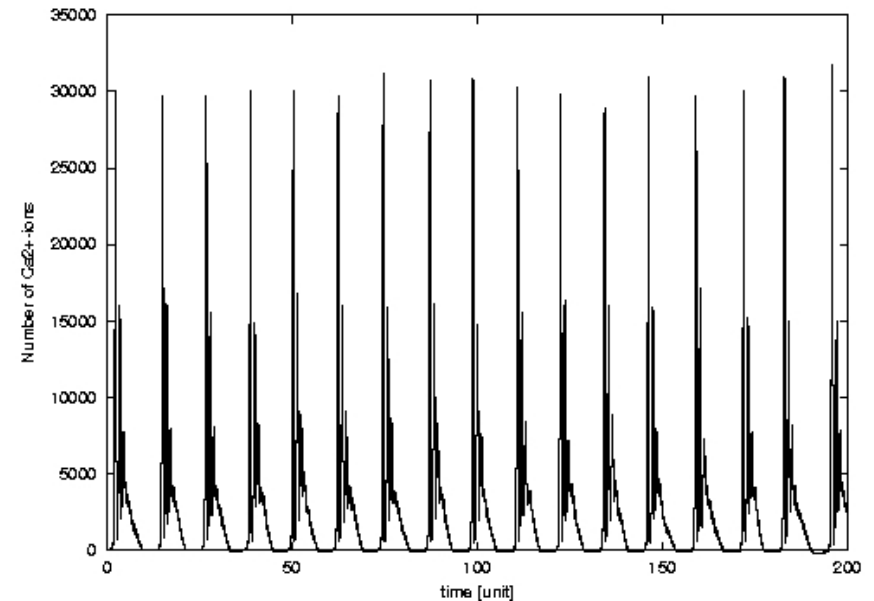


Simulation von Calciumsignalen

deterministisch

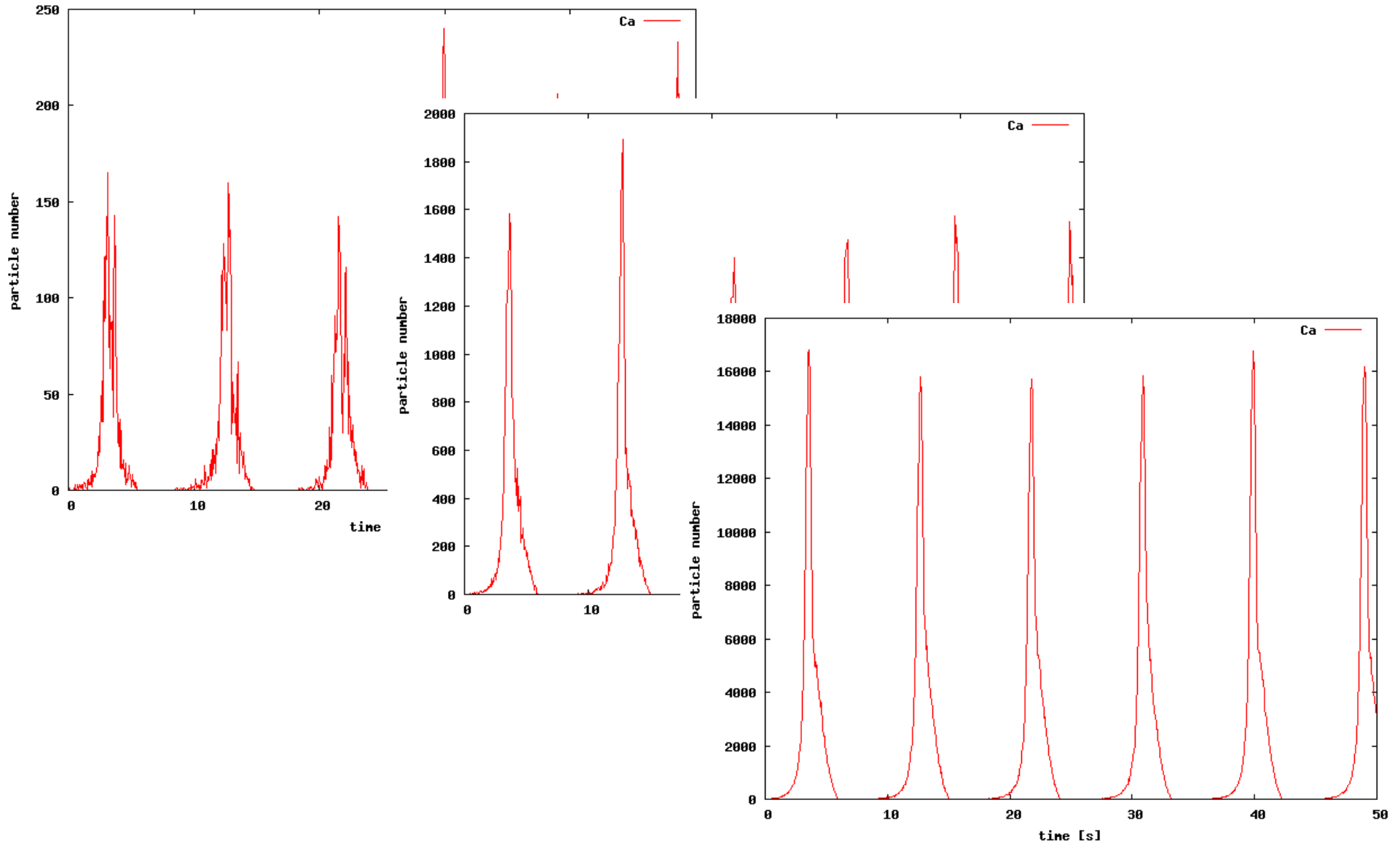


stochastisch

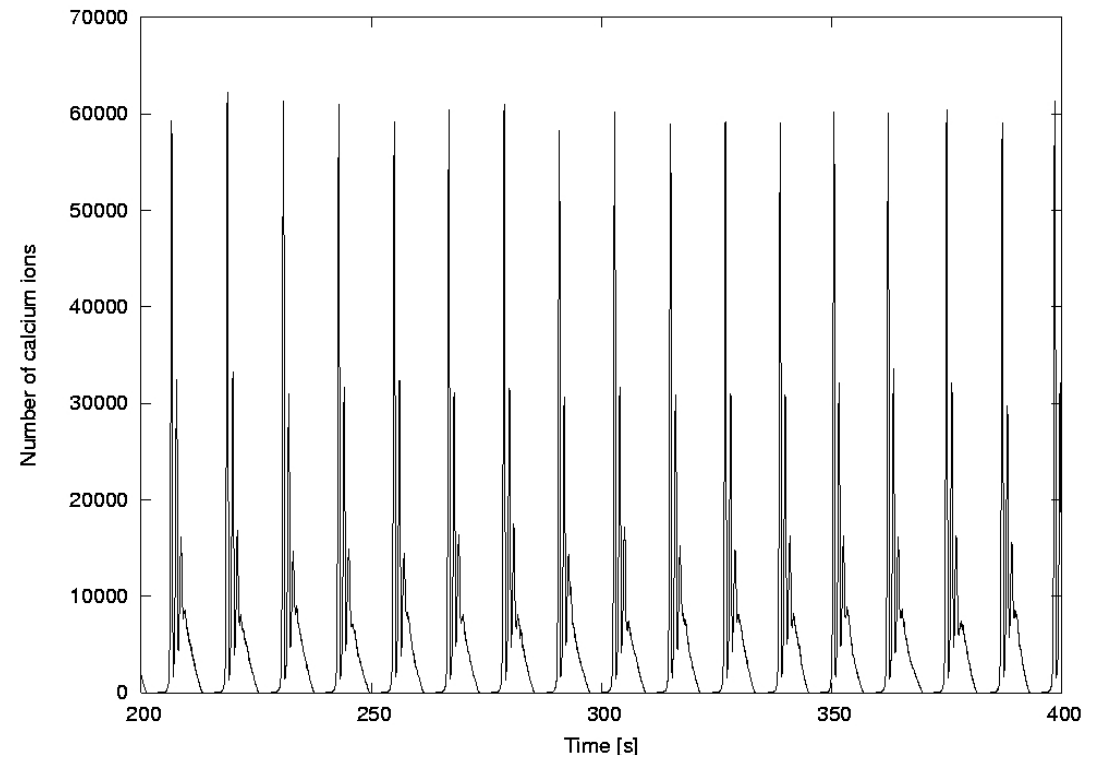
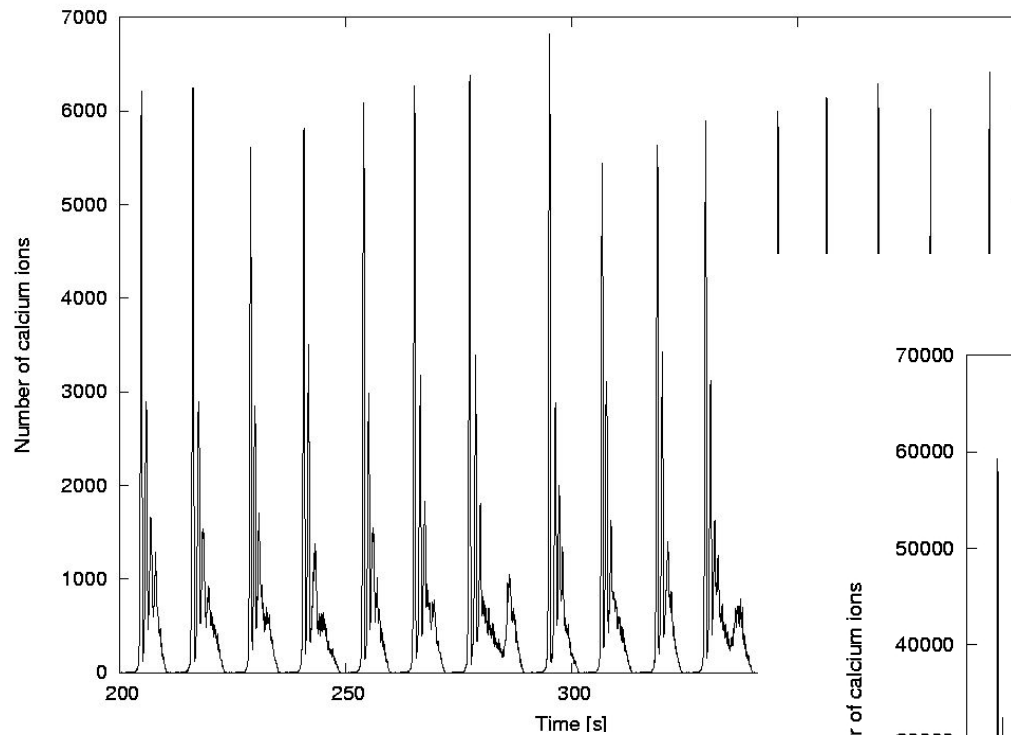


Es gibt bisher keine festen Regeln, um zu bestimmen, wann der Übergang von stochastischem zu deterministischen Verhalten passiert!

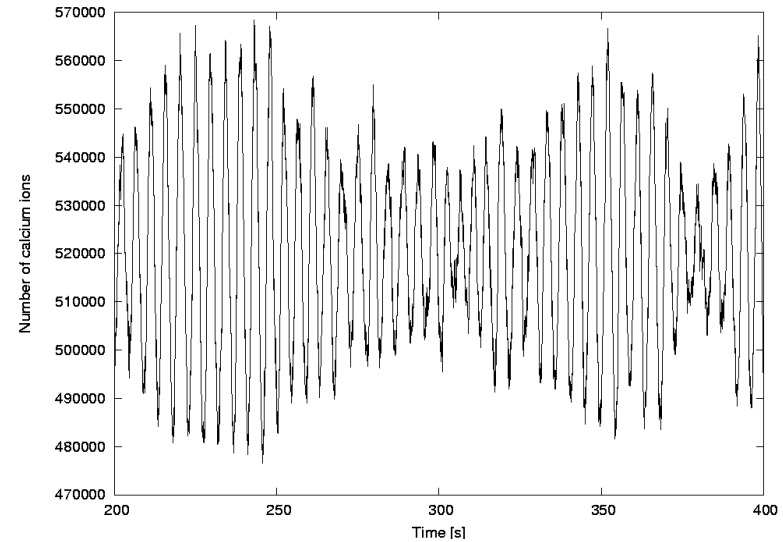
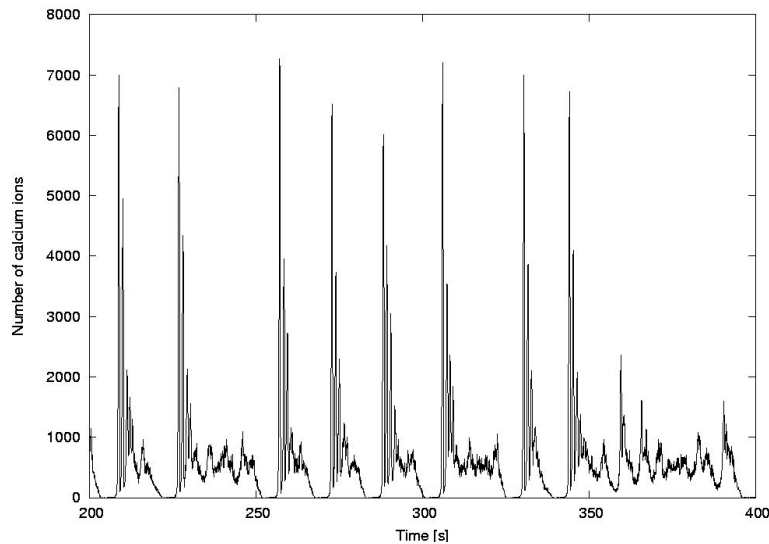
Übergang stochastisch/deterministisch



Übergang stochastisch/deterministisch

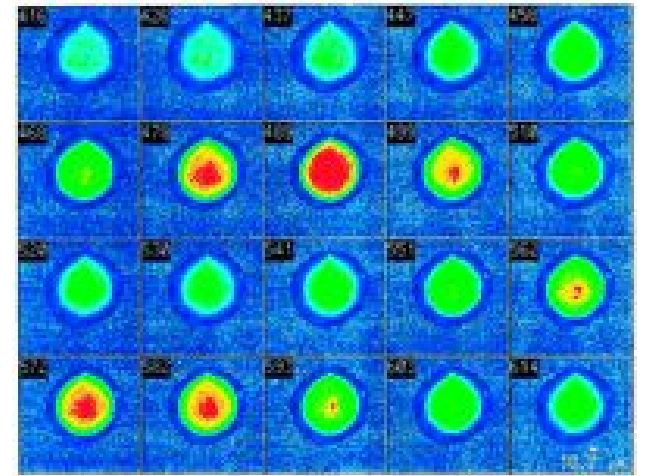


Übergang stochastisch/deterministisch



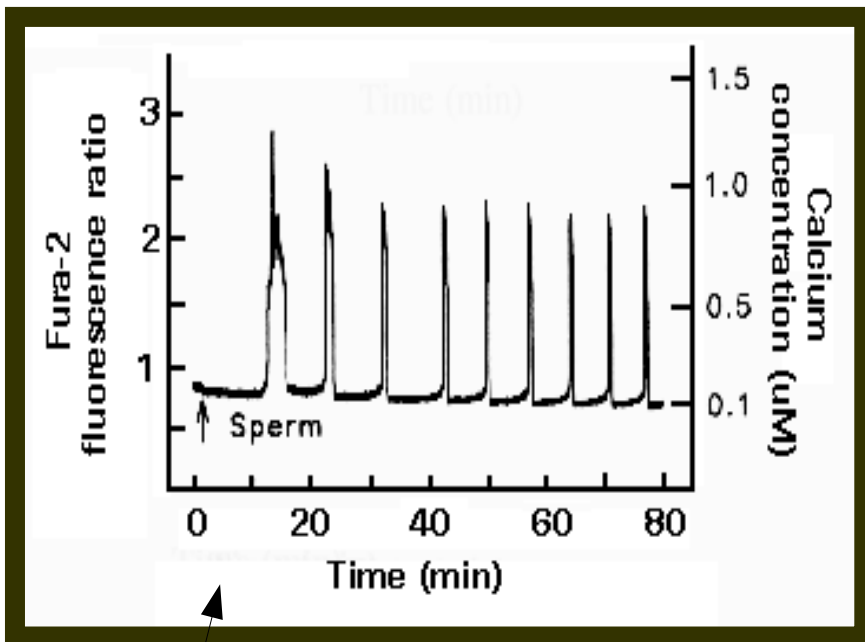
Deterministisch ist dies ein steady state!

Calciumwellen + räumliche Simulationen



Chiu et al., Hum. Reprod. (2003) 18 (2): 408-416.

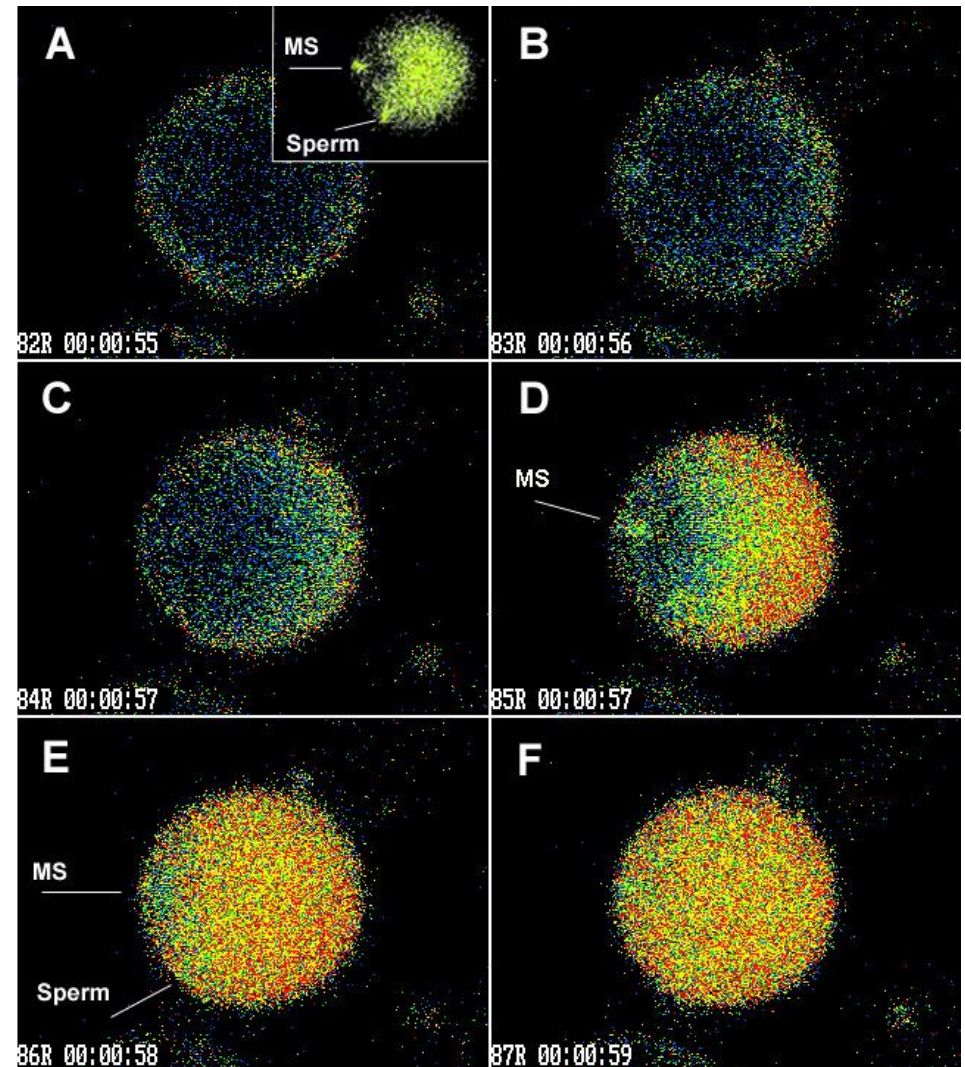
Calciumsignaltransduktion während der Fertilisation



Kline D., Theriogenology, 1996, vol. 45, 81-90

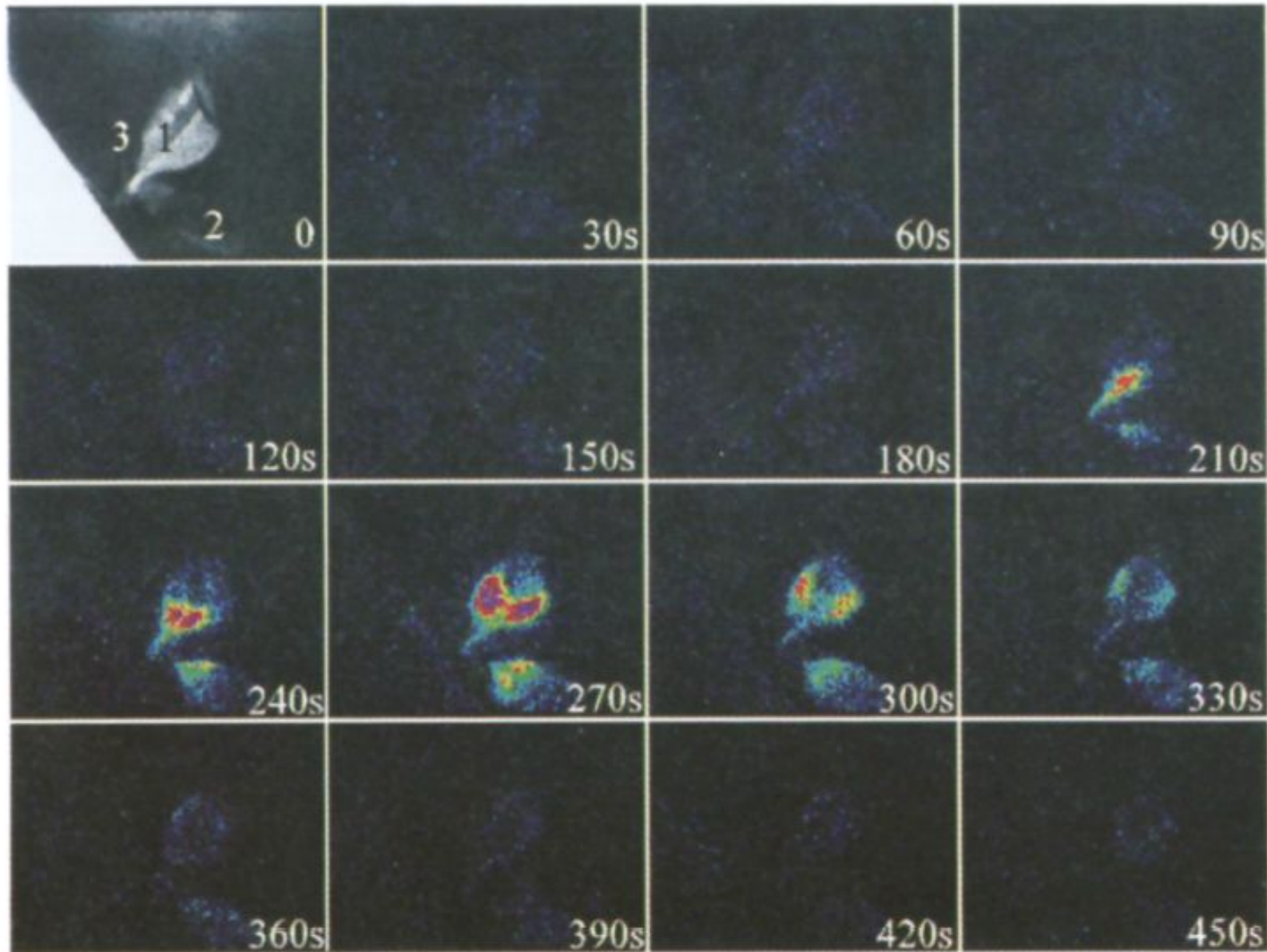
Oszillationen in der Zeit

Wellen im Raum



Chris Fox (www.kent.edu/projects/cell)

Calciumsignaltransduktion in Pflanzen



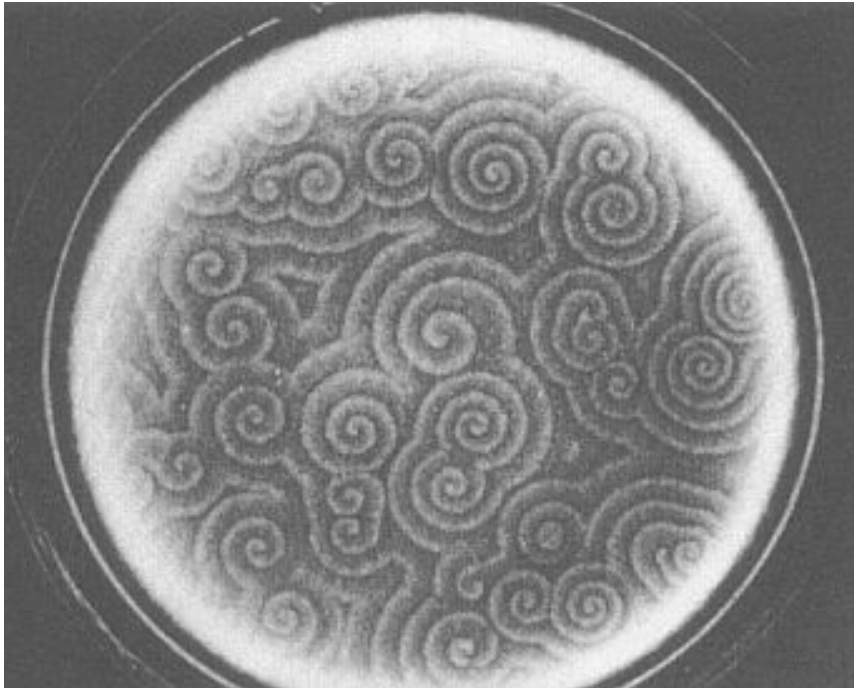
Signalleitung durch
die ganze Pflanze

Fig. 5

(Campbell et al., Cell Calcium, 19, 1996)

1cm

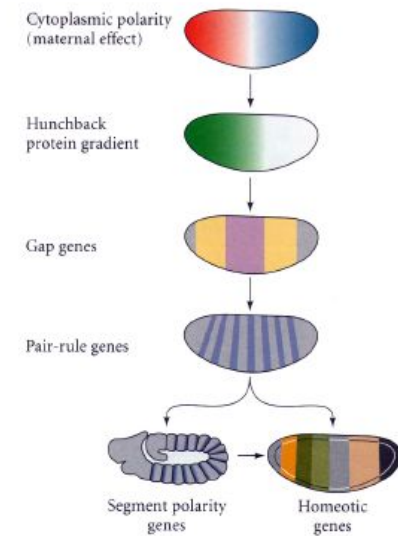
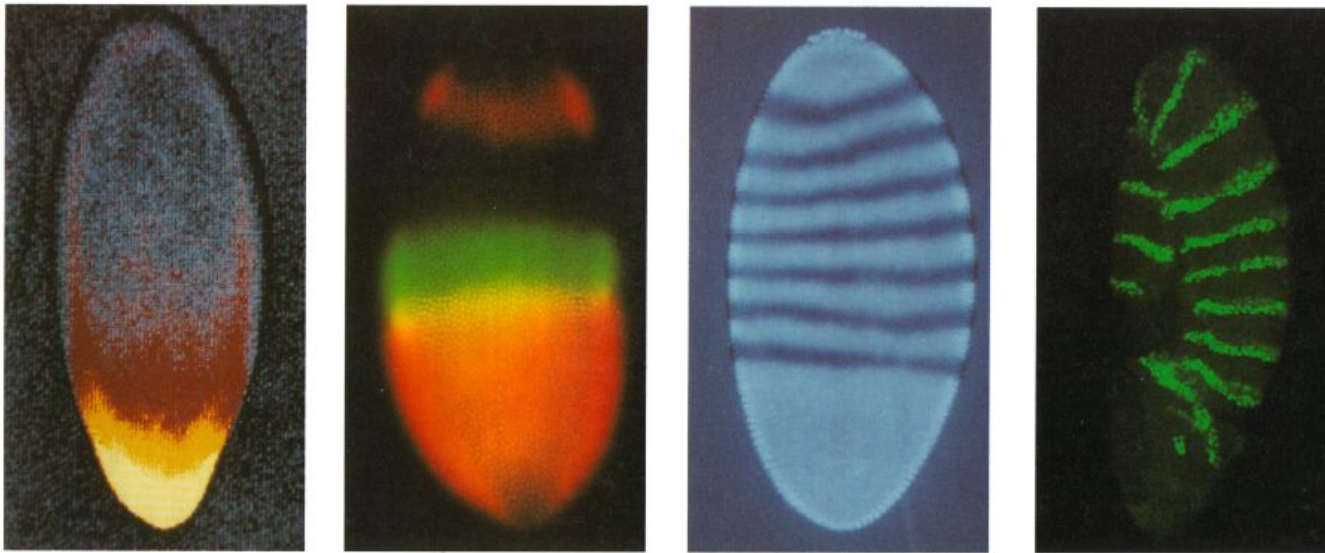
Konzentrationswellen – häufig in der Natur



Diese Muster verändern sich mit der Zeit.

Konzentrationswellen (Spiralwellen) in einer Petrischale mit Dictyostelium discoideum. Die Muster bilden sich in Antwort auf einen Stressor (Ball, 1994)

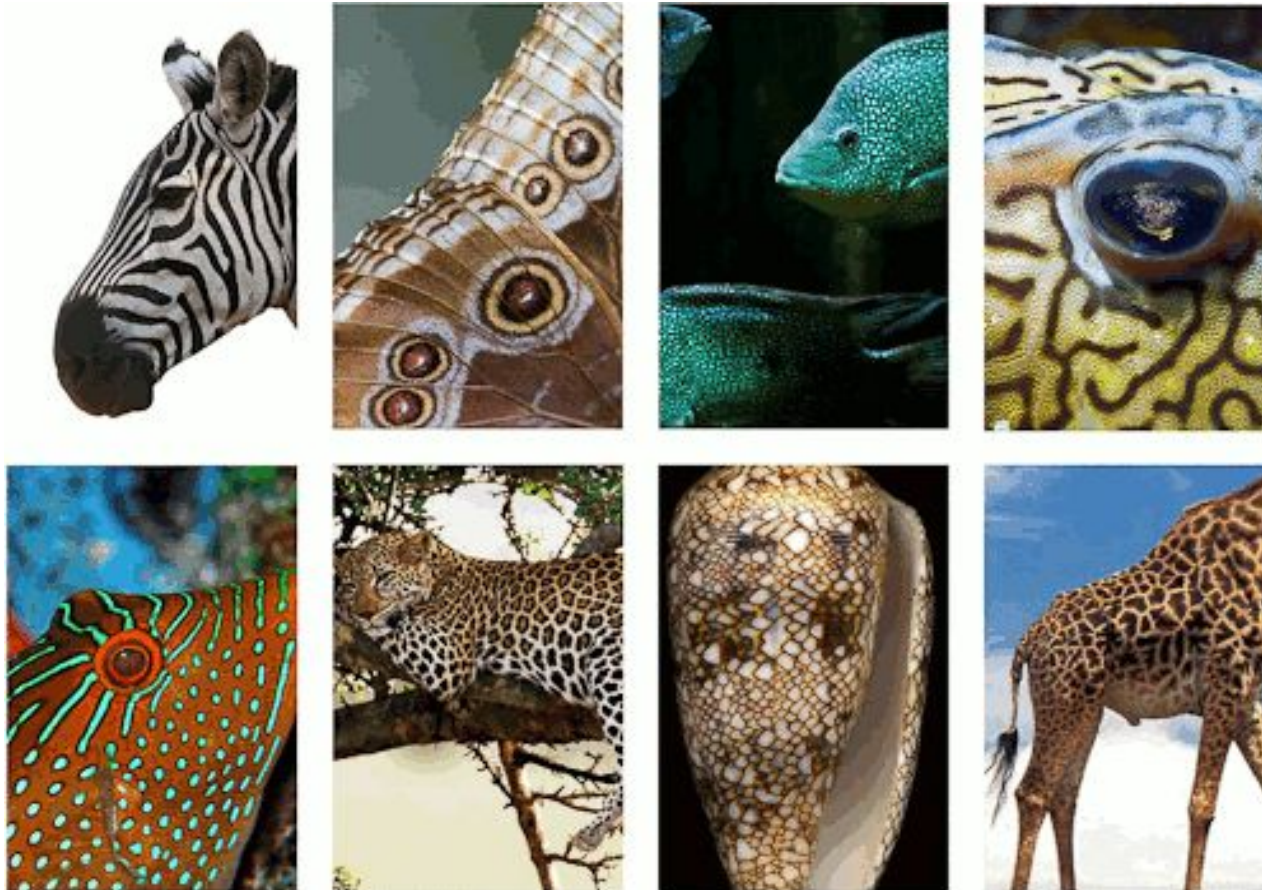
Stehende Wellen/Muster



Quelle: Gilbert, Developmental Biology

Während der Embryogenese entwickeln sich Proteingradienten und Muster, die relativ lange stabil bleiben.

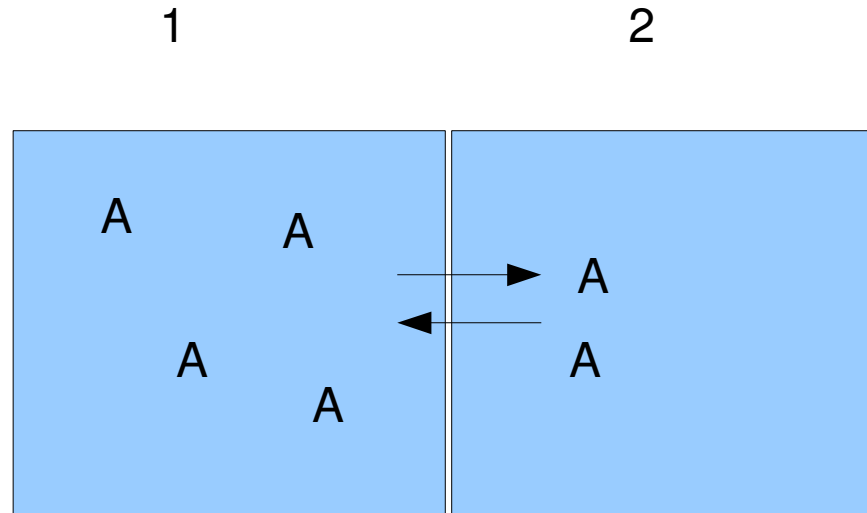
Stehende Wellen/Muster



Frage:
Wie entstehen aus etwas
homogenen (z.B. gleich-
artigen Zellen) solche Muster?

Quelle: Gilbert, Developmental Biology

Modellierung von diffusiv gekoppelten Prozessen 1

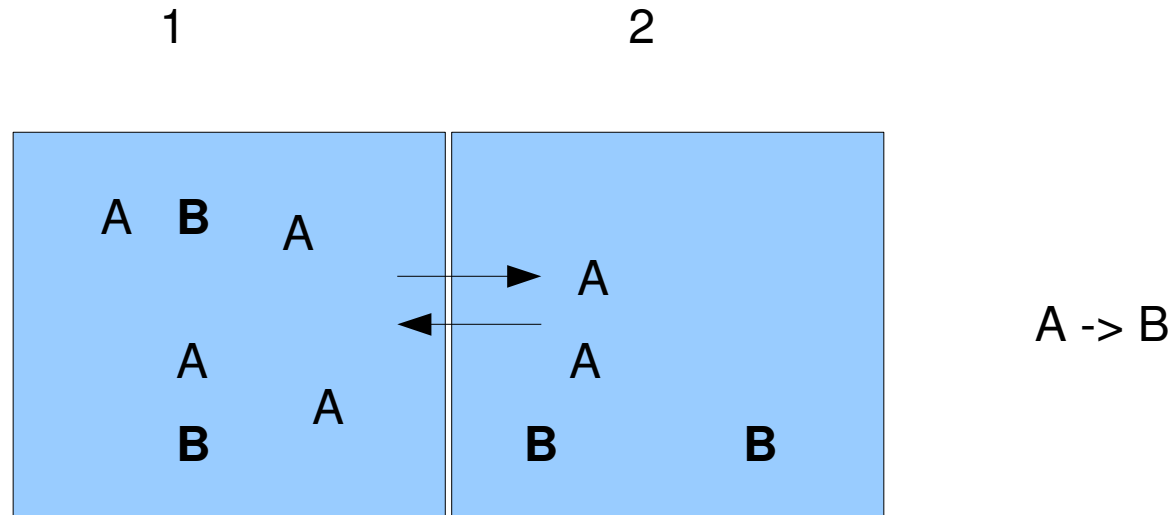


Die Diffusion wird mit der Zeit für einen Ausgleich der Konzentrationen sorgen

$$\frac{d[A_1]}{dt} = -D_A \cdot [A_1 - A_2]$$

und analog für A2

Modellierung von diffusiv gekoppelten Prozessen 2

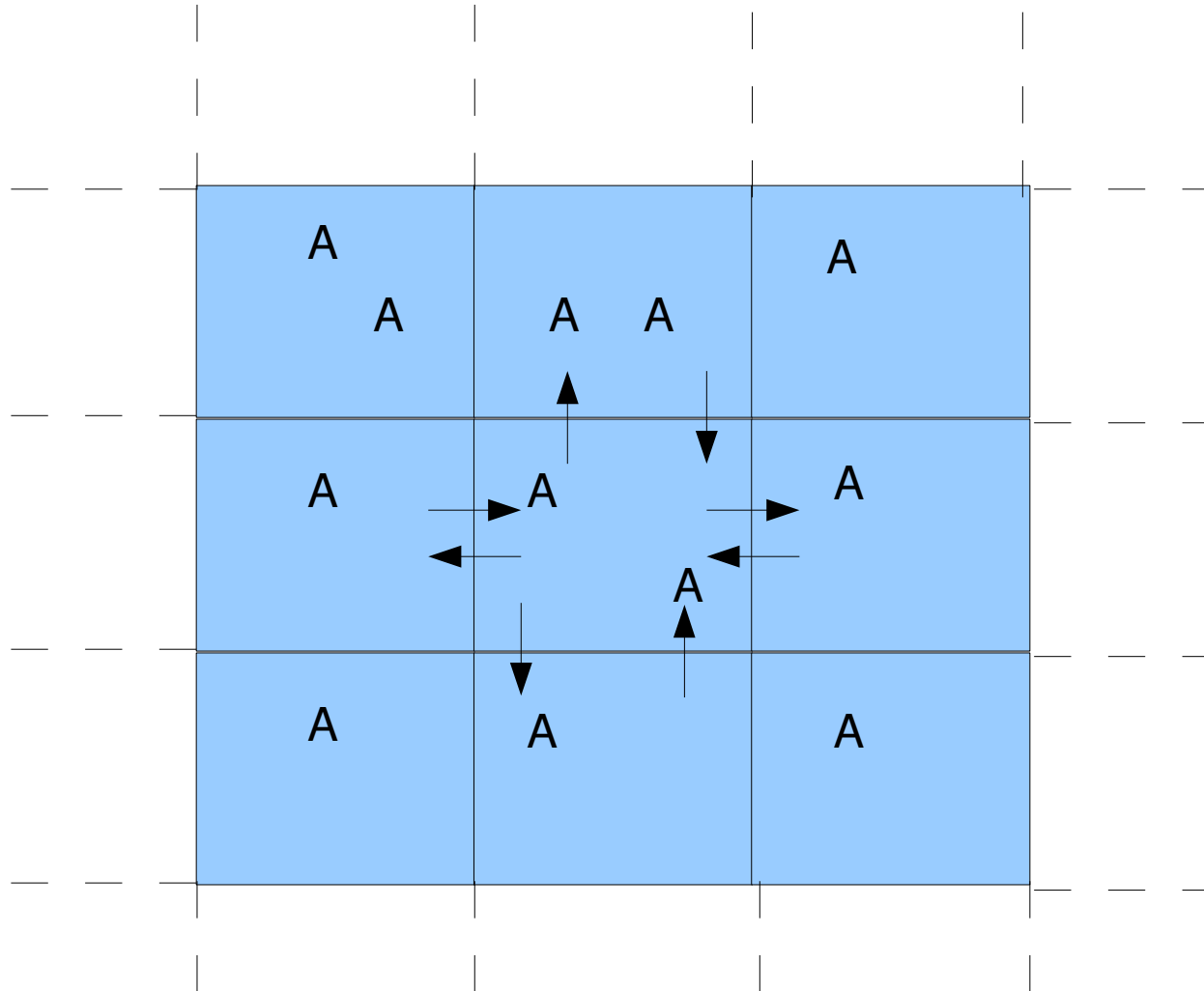


Kommen Reaktionen dazu, werden die entsprechenden Terme addiert

$$\frac{d[\mathbf{A} \ 1]}{dt} = - \mathbf{D}_A \cdot [(\mathbf{A} \ 1 - \mathbf{A} \ 2)] - \mathbf{k}_1 \cdot [\mathbf{A} \ 1]$$

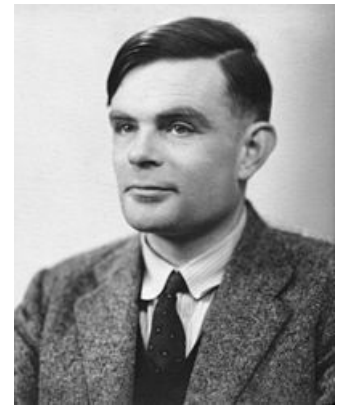
und analog für A2, B1, B2

Modellierung von diffusiv gekoppelten Prozessen 3

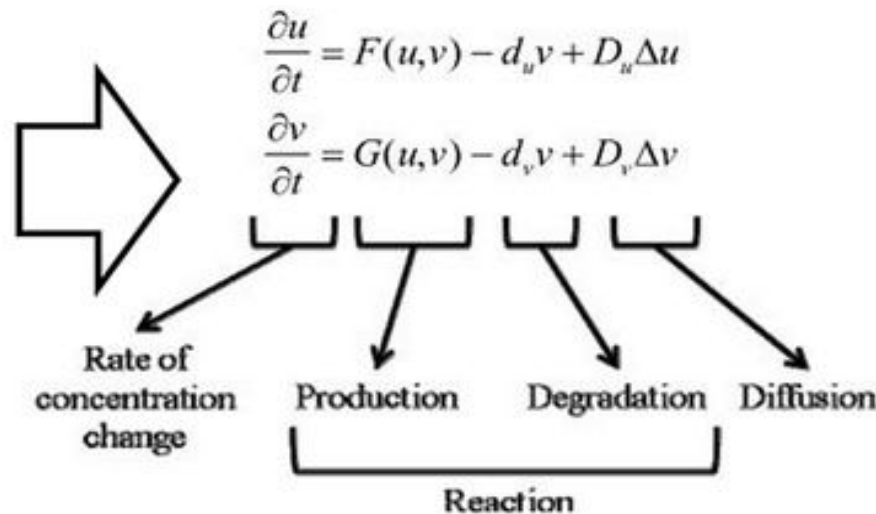


Hat man viele miteinander verbundene Raumeinheiten, ist auch der diffusive Austausch mit vielen Partnern möglich (exemplarisch hier für eine Einheit gezeigt)

Turing-Muster 1



Turing-Gleichungen in der allgemeinsten Form:



Turing erkannte als Erster (1952), dass 2 Chemikalien, die miteinander reagieren und in 1D oder 2D diffundieren, stabile Muster bilden können

Eine der Substanzen ist ein **Inhibitor** und unterdrückt die Produktion von beiden Substanzen. Die andere Substanz ist ein **Aktivator** und beschleunigt die Produktion beider Substanzen. Der Inhibitor diffundiert schneller als der Aktivator.

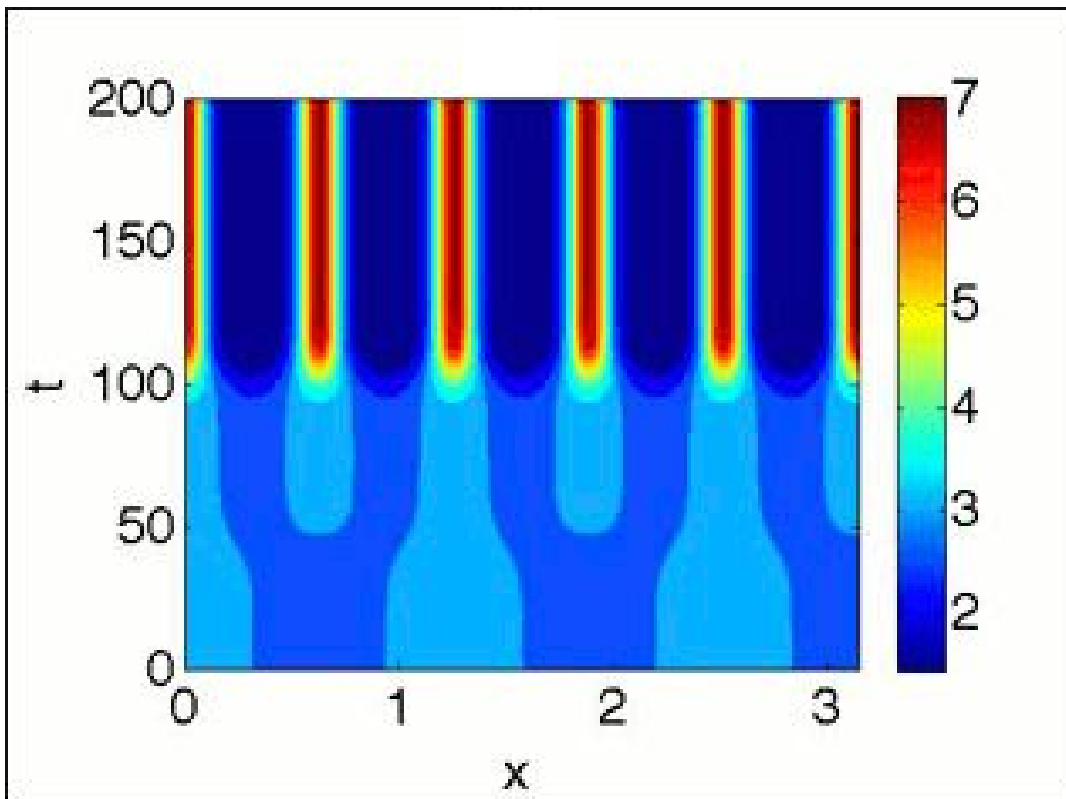
Gierer-Meinhardt

$$\frac{\partial \bar{a}}{\partial \bar{t}} = D \bar{\Delta} \bar{a} + \frac{\bar{a}^2}{\bar{h}} - \bar{a} + \sigma ,$$

$$\frac{\partial \bar{h}}{\partial \bar{t}} = \bar{\Delta} \bar{h} + \mu (\bar{a}^2 - \bar{h}) ,$$

Variante des Turing-Systems, das für die Entwicklungsbiologie entwickelt wurde. a und h sind Morphogene.

Turing-Muster 2



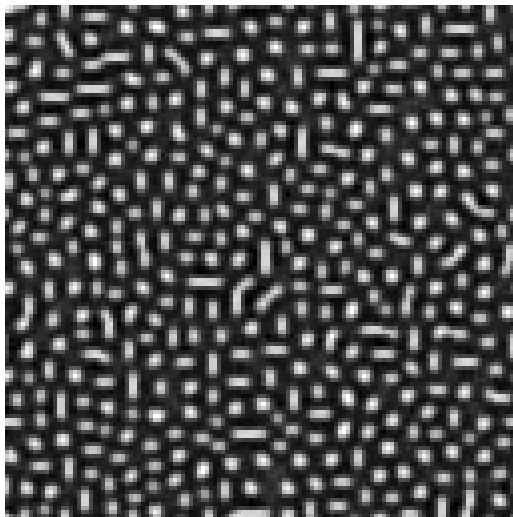
Typische Visualisierung eines
Raum-Zeit-Verlaufs eines
1D-Systems

Turing-Muster 3

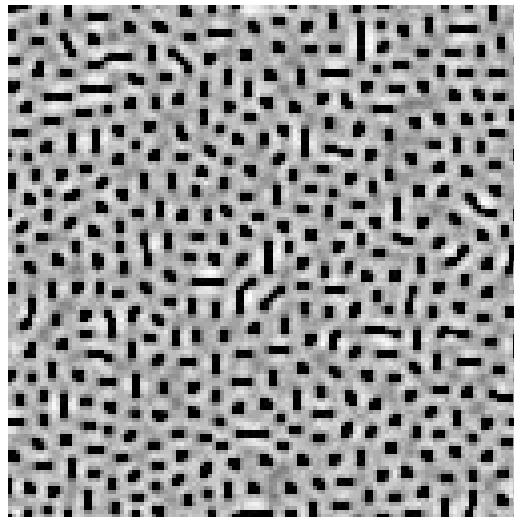


$$\Delta a_{i,j} = D_a (a_{i+1,j} + a_{i-1,j} + a_{i,j+1} + a_{i,j-1} - 4a_{i,j}) + k(16 - a_{i,j} b_{i,j})$$

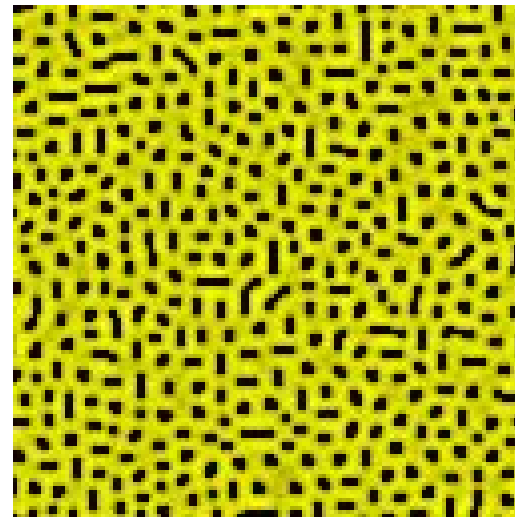
$$\Delta b_{i,j} = D_b (b_{i+1,j} + b_{i-1,j} + b_{i,j+1} + b_{i,j-1} - 4b_{i,j}) + k(a_{i,j} b_{i,j} - b_{i,j} - 12 - \beta_{i,j})$$



a



b



[a: black, b: yellow]

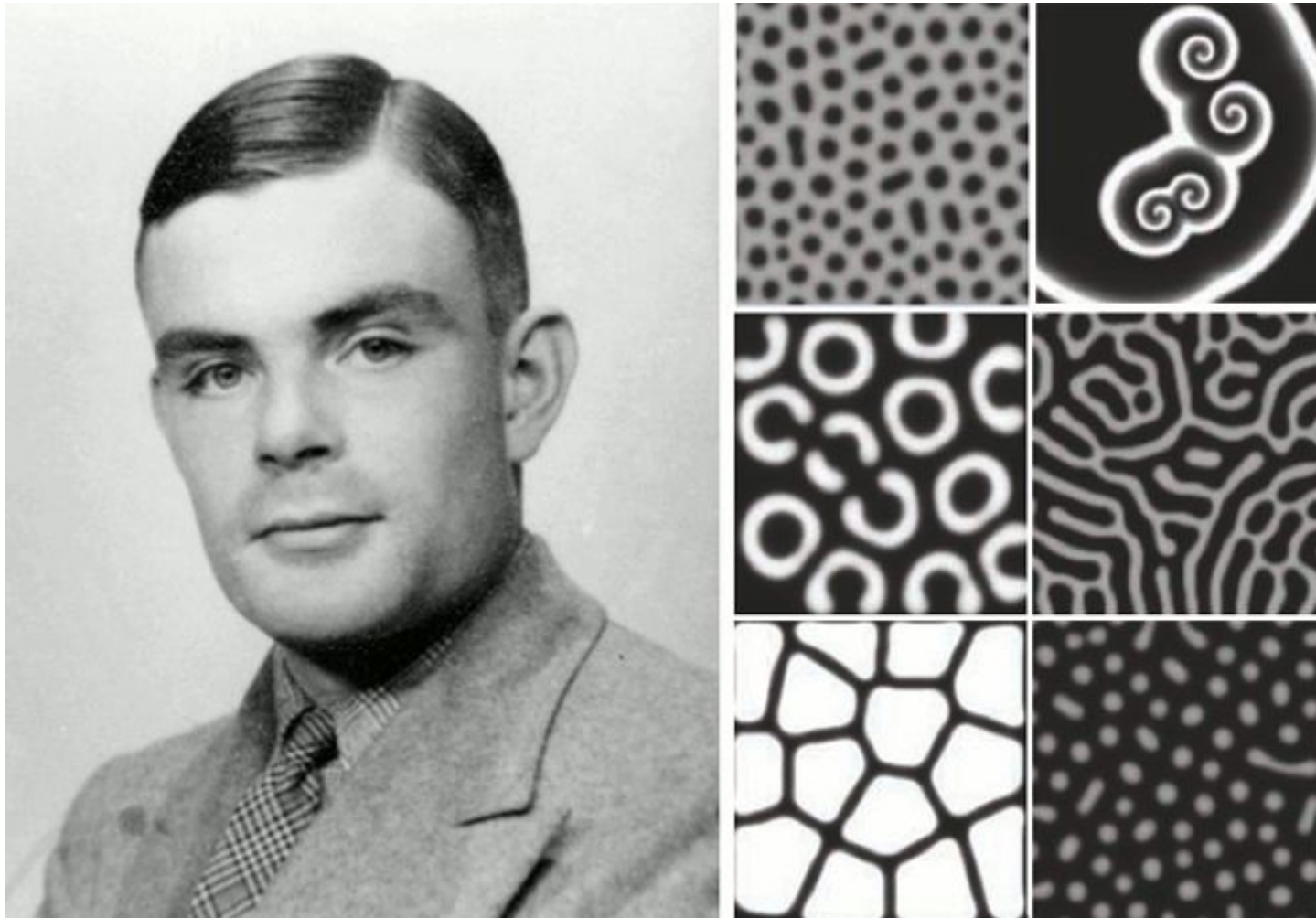
2D

$$D_a=0.1 \quad D_b=0.02 \quad \beta=0.1 \quad k=0.02$$

Quelle: Reaction-Diffusion by Sertan Girgin and Ahmet Saçan

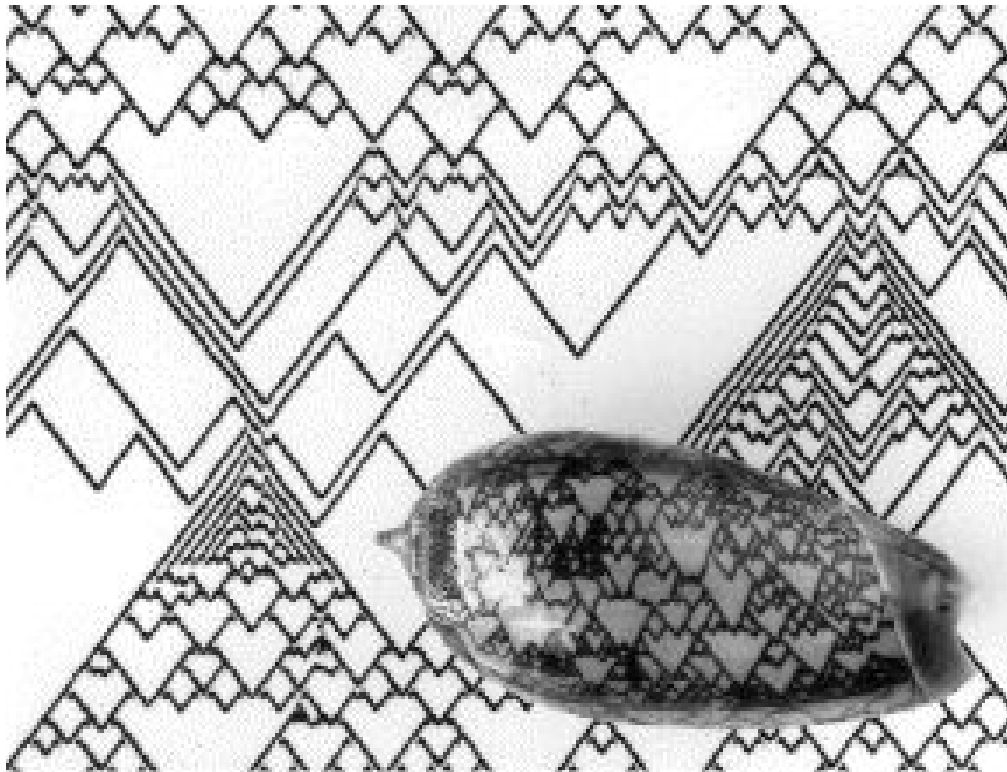


Turing-Muster 4



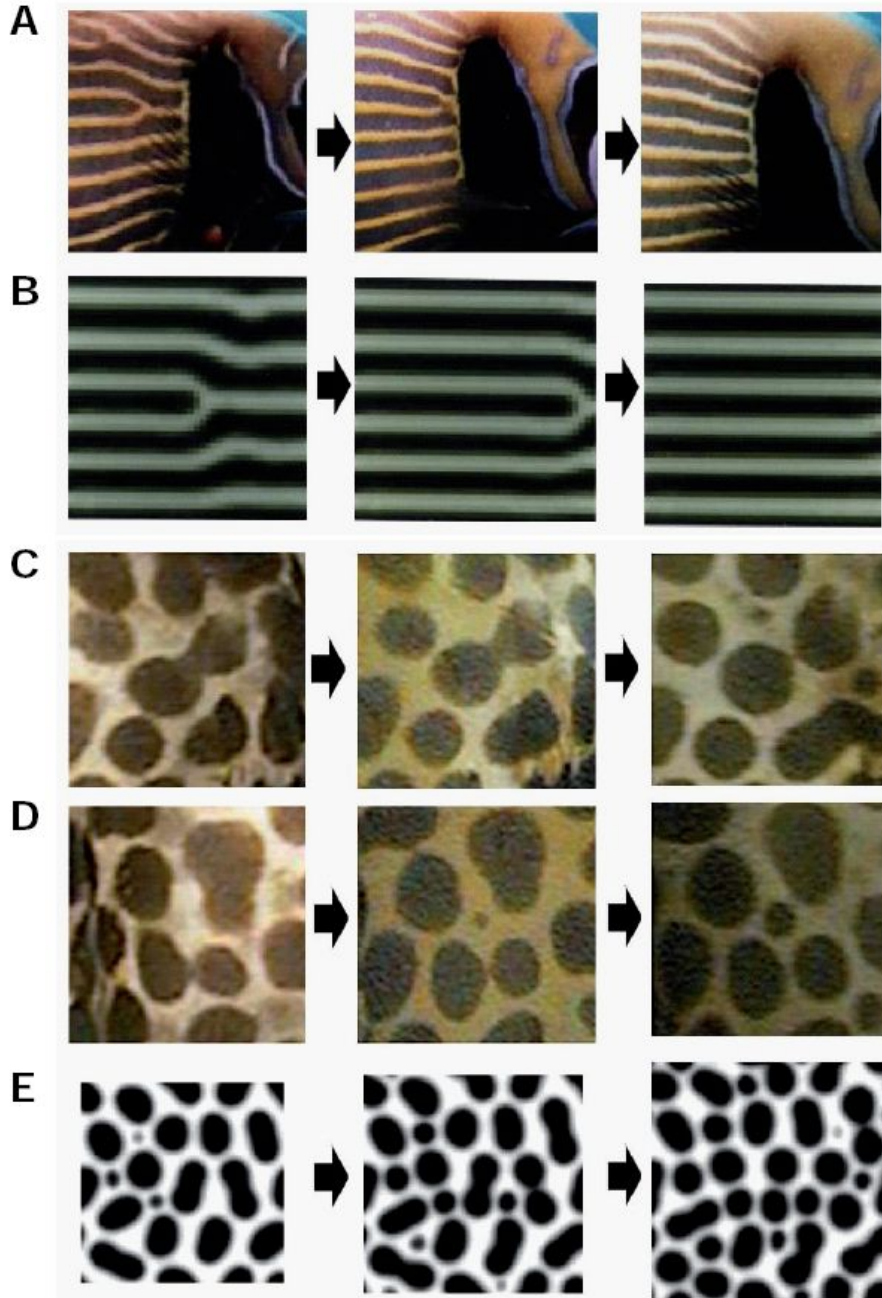
Wenn man die
Parameter ändert,
entstehen ver-
schiedene Muster.

Meinhardt: Muster auf Meeresschnecken



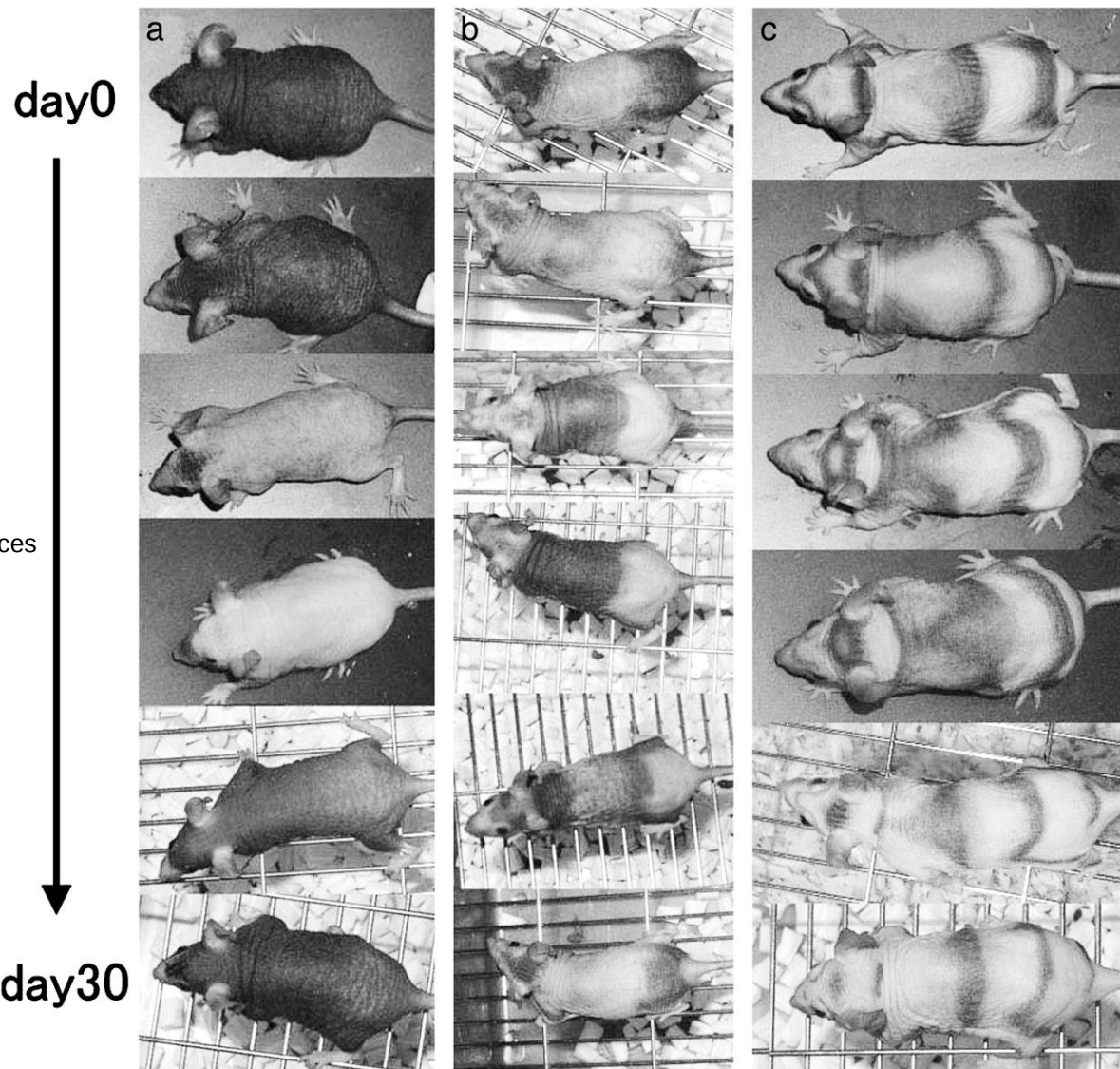
Im Prinzip entstehen die meisten Muster hier durch langsam sich verändernde Muster in 1D

Turing und Fische



Als Student beobachtete S. Kondo die Entwicklung von Kaiserfischen und entdeckte, dass deren Muster sich verändern nach Gesetzmässigkeiten, die auf Turing-Mustern basieren.

Pattern change of a homozygous *Foxn1*^{tw} mouse during the 30-day cycle.



Turing-
Mäuse

©2003 by National Academy of Sciences

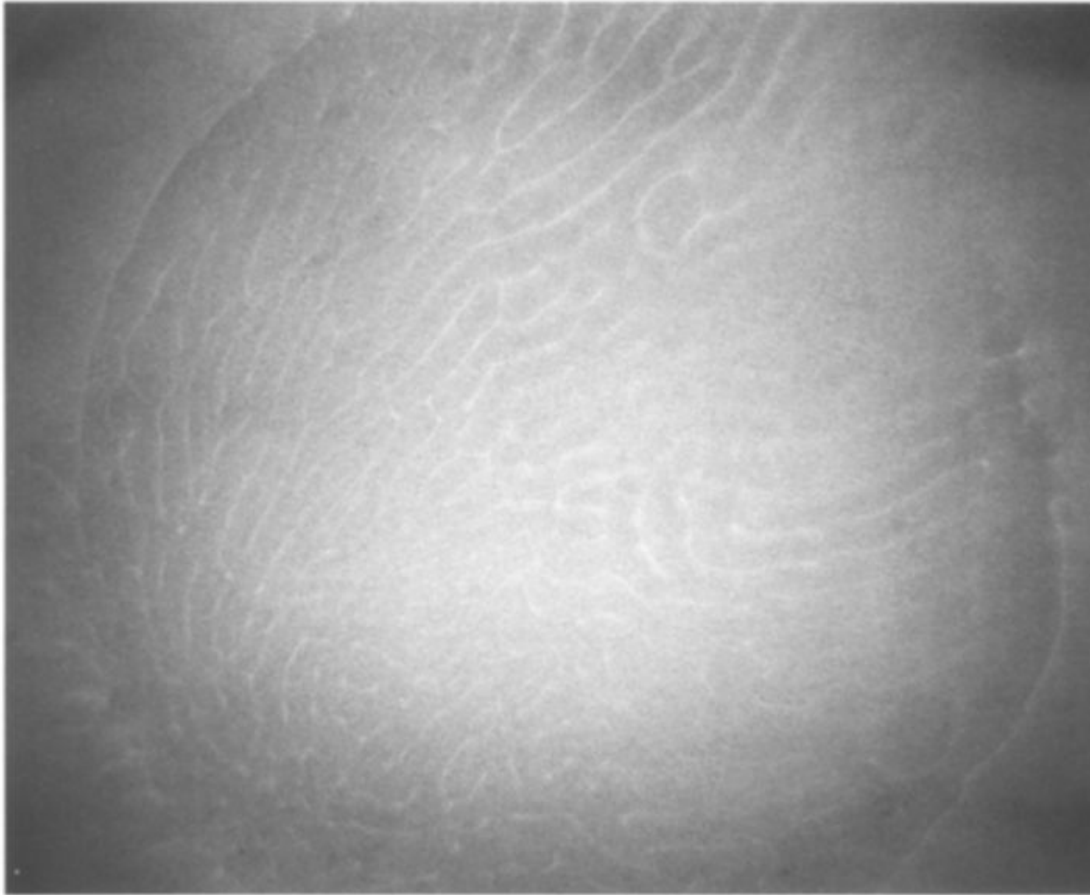
Suzuki N et al. PNAS 2003;100:9680-9685

Achtung!

Wenn die Größe der betrachtenden Raumeinheiten gegen null geht, geht die mathematische Beschreibung des Systems in PDEs über, was die wirklich korrekte Form ist.

Wir haben hier nicht das Problem von Randbedingungen besprochen.

Etwas zum Ausprobieren.....



Einfaches experimentelles
System, zur Beobachtung
von Musterbildung

Fig. 1. Detail of pattern in a petri dish with 19-cm diameter filled to a height of 6 mm with a solution, containing 0.2 mM iodine, 100 mM NaCl, and 0.25 mg/ml starch, 25 min after the start of the experiment. The area corresponds to about 11×11 cm in reality

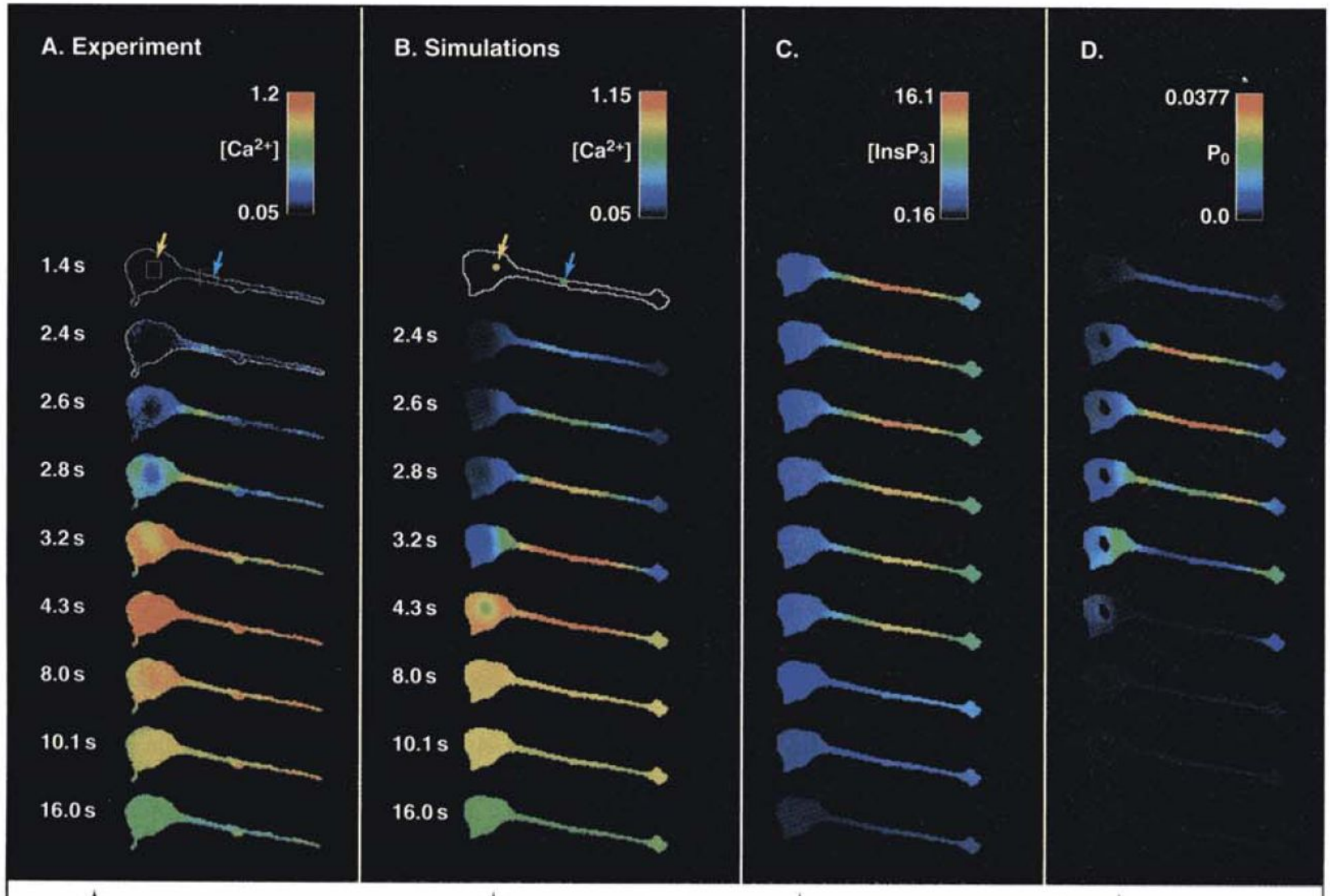
Kummer und Baier,
Z. Naturforschung, 1996

Zurück zu Calcium-Modellen

Mit Reaktions-Diffusions-Modellen lassen sich auch Calciumwellen und -muster beschreiben.

Der Reaktionsteil wird hier durch die entsprechenden Reaktionen der Calciumsignaltransduktion ersetzt.

Es gibt auch stochastische Algorithmen für räumliche Simulationen, falls angebracht.



Bradykinin-induzierte Calciumwellen in Neuronen (Quelle: VCell Doku)