

Aufgabe 4: Modell für die Signaltransduktion via Ca^{2+} -Ionen

Modellierung des Systems in Madonna

Die Modellierung des Systems in Madonna ist sehr einfach, da man die Gleichungen und Werte einfach aus der Aufgabenstellung übernehmen kann. Hier ist das fertige Modell (calcium.mmd):

```
METHOD stiff

STARTTIME = 0
STOPTME = 2000
DT = 0.000001

init Ga = 0.01
init PLC = 0.01
init Ca = 0.01

d/dt(Ga) = k1 + k2 * Ga - ((k3 * PLC * Ga)/(K4 + Ga))
           -((k5 * Ca * Ga)/(K6 + Ga))
d/dt(PLC) = k7 * Ga - ((k8 * 1 * PLC)/(K9 + PLC))
d/dt(Ca) = k10 * Ga - ((k11 * 1 * Ca)/(K12 + Ca))

k1 = 0.212
k2 = 2.92
k3 = 1.52
K4 = 0.19
k5 = 4.88
K6 = 1.18
k7 = 1.24
k8 = 32.24
K9 = 29.09
k10 = 13.58
k11 = 153
```

K12 = 0.16

Zu beachten ist, daß man als Integrationsmethode *stiff* wählt, da die anderen Methoden bei solch steifen Systemen falsche Ergebnisse liefern, oder mit einer Fehlermeldung abbrechen.

Modellierung des Systems in STODE

Bei der Modellierung des Systems in STODE kann man genauso alle Werte und Gleichungen aus der Aufgabenstellung übernehmen. Man muß lediglich zusätzlich des Zellvolumen angeben, damit STODE die tatsächliche Teilchenzahl berechnen kann.

Da der Berechnungsaufwand bei STODE linear mit der Teilchenzahl steigt, ist es vielleicht keine schlechte Idee das Zellvolumen etwas zu verkleinern.

Obwohl es also möglich ist, das System mit STODE zu simulieren ist es unter Umständen insbesondere im Hinblick auf Aufgabenteil b) nicht unbedingt zu empfehlen.

```
# Differential equations
Ga' = k1 + k2*Ga - k3*(PLC)/(Ga+K4)*Ga - k5*(Ca)/(Ga+K6)*Ga
PLC' = k7*Ga - k8*(1)/(K9+PLC)*PLC
Ca' = k10*Ga - k11*(1)/(Ca+K12)*Ca

# Initial conditions
Ga = 0.01
PLC = 0.01
Ca = 0.01

# Constants
K4 = 0.19
K6 = 1.18
K9 = 29.09
K12 = 0.16
CellVolume := 5.0e-13

# Rate constants
k1 -> 0.212
k2 -> 2.9529
```

k3 -> 1.52
k5 -> 4.88
k7 -> 1.24
k8 -> 32.24
k10 -> 13.58
k11 -> 153

Modellierung des Systems mit Gepasi

Die Modellierung mit Gepasi ist nicht ganz so einfach, da man eigene Kinetiken definieren muß. Die Reaktionen kann man direkt aus der Aufgabenstellung entnehmen, wobei man die Symbole über den Pfeilen erst einmal ignoriert. D.h. zuerst gibt man folgende Reaktionen ein:

-> Ga
-> Ga
Ga ->
Ga ->
-> PLC
PLC ->
-> Ca
Ca ->

Dies entspricht den Reaktionen R1 - R8 auf dem Aufgabenblatt. Für die Reaktionen R1, R6 und R8 gibt es bereits passende Kinetiken und Gepasi, für Reaktion R2 , R3, R4, R5 und R7 muß man jedoch erst die passende Kinetik definieren, wobei jeweils R2,R5 und R7 und R3 und R4 dieselbe Kinetik besitzen.

Wir definieren zuerst eine neue Kinetik für die lineare Aktivierung. Dazu öffnet man den „Kinetic Types“-Dialog. Dort kann man mit dem Add-Button eine neue Kinetik hinzufügen. Im oberen Fenster trägt man die Formel ein, in diesem Fall $k \cdot M$, wobei k die Geschwindigkeitskonstante ist und M der Modifikator. Anschließend gibt man der Formel im darunterliegenden Feld einen aussagekräftigen Namen, wie z.B. „lineare Aktivierung“ und bestätigt das Ganze durch Drücken des „Accept Function“-Buttons. Nun sollte man im darunterliegenden Feld die Symbole (k,M). Nun klickt man k an und setzt den Typ auf Constant und den Typ für M auf Modifier. Zuletzt fügt man die Funktion mit dem „Add“-Button der Liste der Kinetiken hinzu.

Als nächstes definieren wir eine neue Formel für die irreversible Michaelis-Menten-Kinetik in Reaktion R3 und R4. Gepasi besitzt zwar bereits eine Kinetik für irreversible Michaelis-Menten Reaktionen, doch nur für konstante Enzym Konzentrationen, was bei diesem Beispiel nicht der Fall ist. Die Formel für die Kinetik lautet $k \cdot M \cdot S / (K_m + S)$. k ist eine Geschwindigkeitskonstante, M ist ein Modifier, S ist Substrat und K_m ist eine Michaelis-Menten-Konstante. Bei der Namensgebung der Kinetik bitte darauf achten, daß es nicht derselbe Name ist wie für Gepasi eigene Michaelis-Menten-Kinetik.

Nach der Definition der zwei Kinetiken können wir den einzelnen Reaktionen nun Kinetiken zuweisen.

```
R1 : Constant flux(irreversible); v=k1=0.212
R2 : lineare Aktivierung; k=k2=2.92, M=Ga
R3 : irrev. Mich.-Menten; k=k3=1.52, Km=K4=0.19, M=PLC
R4 : irrev. Mich.-Menten; k=k5=4.88, Km=K6=1.18, M=Ca
R5 : lineare Aktivierung; k=k7=1.24, M=Ga
R6 : Henri-Michaelis-Menten Km=K9=29.09 V=k8=32.24
R7 : lineare Aktivierung; k=k10=13.58 ,M=Ga
R8 : Henri-Michaelis-Menten; Km=K12=0.16, V=k11=153
```

Das System kann nun simuliert werden. Leider ist Gepasi für Aufgabenteil b) auch nicht unbedingt geeignet, da etwas kompliziert.

Teilaufgabe b)

Wie bereits oben erwähnt löst man Teil b) am besten in Madonna, da man hier die einzelnen Parameter bequem über Slider verändern kann und die Auswirkungen direkt sehen kann. Der sensitivste Parameter für das System ist k_2 , da er die Hormonwirkung am Rezeptor und die autokatalytische Bildung von Ga beeinflusst. D.h. mit k_2 läßt sich das System am stärksten beeinflussen. Um das System zu chaotischem Verhalten zu bringen, variiert man k_2 im Bereich 2.9255 - 2.9265 mit einer Schrittweite von 0.00001. Chaos sollte sich bei etwa 2.9259 einstellen und nur in einem sehr kleinen Wertebereich erhalten bleiben. Dies gilt aber nur wenn man als Methode "Rosenbrock (stiff)", gewählt hat (s.u.).

Den chaotischen Bereich in STODE zu finden ist mühsam oder aufgrund der stochastischen Simulationsmethode unter Umständen überhaupt nicht möglich.

In Gepasi lassen sich die Parameter leider nicht so einfach variieren wie in Madonna, d.h. man muß den Bereich entweder manuell durchsuchen, oder einen Parameter Scan laufen lassen, der den Bereich abdeckt. Dies kann sehr lange dauern. Aufgrund der unterschiedlichen Integrationsmethoden von Gepasi und Madonna ist der chaotische Bereich in Gepasi nicht an exakt derselben Stelle wie in Madonna. Man findet ihn bei einem Wert von $k_2 \approx 2.926081$. Dies liegt vor allem daran, daß Madonna und Gepasi unterschiedliche Methoden für die Integration verwenden (s.u.). Da Computer nunmal nur mit einer begrenzten Genauigkeit rechnen können wirken sich Rundungsfehler und Ungenauigkeiten in den unterschiedlichen Methoden auch etwas anders aus, was wie in diesem Fall zu leicht unterschiedlichen Ergebnissen führen kann.

Die Suche nach dem Chaos

Wie bereits erwähnt ist es oftmals nicht ganz einfach den chaotischen Bereich zu finden bzw. überhaupt erst zu erkennen, deshalb möchte ich eine mögliche Vorgehensweise mit dem Programm Madonna hier etwas ausführlicher besprechen. Doch zuerst ein paar generelle Bemerkungen zur Simulation dynamischer System auf Computern.

Simulationen führt man eigentlich nur durch, weil es meist nicht möglich ist die exakte Lösung eines Differentialgleichungssystems durch Integration zu bestimmen, d.h. man benutzt ein Programm um eine Näherung der Lösung zu berechnen. Da die diversen Methoden diese Näherung auf unterschiedliche Art und Weise berechnen werden die Ergebnisse immer leicht unterschiedlich sein. Dies ist ein weiten Bereichen einer Simulation unkritisch.

Eine der Eigenschaften von Chaos ist es jedoch, daß es selbst auf kleine Änderungen stark reagiert. D.h. wenn man ein System im Chaos simuliert führen zwei leicht Unterschiedliche Ausgangsbedingungen zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. D.h. in diesem Bereich beeinflußt die zur Integration gewählte Methode das Ergebnis stark. Da nicht alle Computer mit derselben Genauigkeit rechnen, kann bei Simulationen mit vielen Schritten (kleine Schrittweite und/oder langes Zeitintervall) auch das gewählte Computersystem das Ergebnis beeinflussen. Dieser Effekt sollte bei heutigen Computersystem aber erst bei sehr sehr großer Anzahl der Schritte eine Rolle spielen.

Die weiteren Beispiele beziehen sich auf eine Simulation in Madonna mit einer Startzeit von 0, einer Endzeit von 2000, einer Schrittweite von

1.25×10^{-9} und der Rosenbrock Methode zur Integration (s.o.). Möglicherweise muß die Schrittweite auf Nachfrage des Programms verkleinert werden. Die aufgeführten Plots zeigen nicht immer die gesamte Simulation, sondern oftmals nur einen Ausschnitt um die Details besser darstellen zu können.

Zuerst wird der Parameter k_2 im Bereich von 1...3.5 in Schritten von 0.1 Einheiten geändert und man verfolgt die Änderung des Systems. Diese Änderung des Systems kann man entweder im Plot der Substanzen gegen die Zeit, oder auch im Plot zweier Substanzen gegeneinander (z.B. Ca gegen Ga) verfolgen. Für die grobe Rasterung von K_2 am Anfang sind wahrscheinlich beide Plots geeignet, während später in den Zeit Plots nur noch sehr schwer Änderungen wahrzunehmen sind.

Bei einem Wert von $k_2=1.2$ beobachtet man, daß das System in einen Steady State läuft (Abbildung 1).

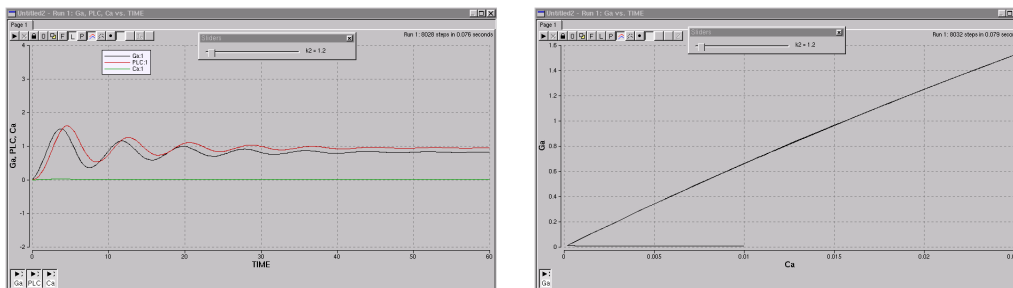


Abbildung 1: $k_2 = 1.2$

Daß es sich hierbei um einen Steady State handelt ist aus dem Phasenplot nicht unbedingt ersichtlich, trägt man jedoch zwei andere Metabolitenkonzentrationen gegeneinander auf wird es oft eindeutiger (Abbildung 2).

Dieses Verhalten bleibt bis zu einem Wert von ca. 1.4 erhalten. Ab etwa 1.4 beginnt das System zu oszillieren und bis zu einem Wert von 1.9 ändert sich nur die Amplitude der beteiligten Substanzen (Abbildung 3), die Oszillation bleibt mehr oder weniger unverändert.

Ab einem Wert von 1.9 sieht man plötzlich einen zweiten Peak in den Ca^{2+} und G_α Kurven auftauchen der bei 2.3 ganz zu sehen ist (Abbildungen 4 & 5).

Bei 2.7 sieht man einen dritten Peak und bei 2.9 taucht ein vierter auf (Abbildungen 6 & 7).

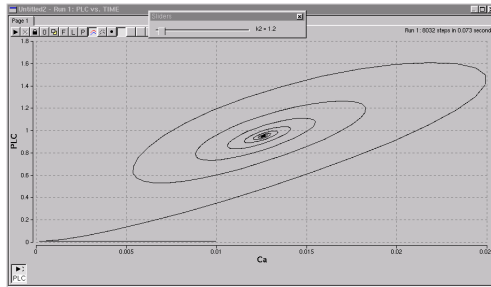


Abbildung 2: $k_2 = 1.2$

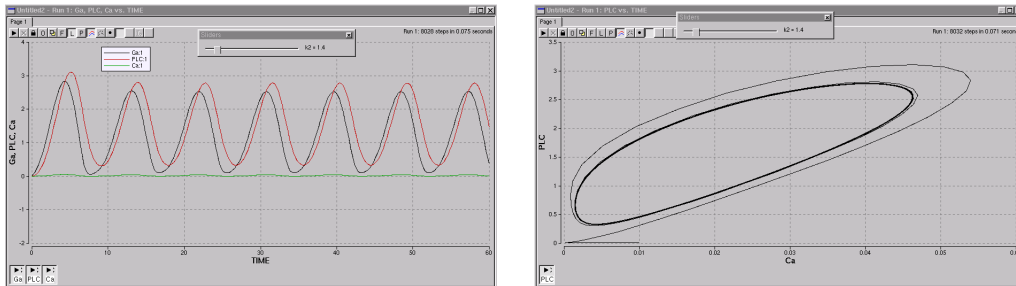


Abbildung 3: $k_2 = 1.4$

Erreicht man einen Wert von 3.0 verhält sich das System plötzlich völlig anders (Abbildung 8).

Die Oszillationen sind verschwunden, PLC wächst über alle Grenzen und die anderen Substanzen laufen in einen Steady State. Auch dies sieht man besser in einem anderen Phasenplot (Abbildung 9).

Erhöht man k_2 weiter, so bilden sich bei ca. 3.6 wieder Oszillationen aus dieser Bereich ist jedoch physiologisch nicht mehr interessant, da in tierischen Zellen k_2 diesen Wert nie erreicht.

Die größte Änderung im Verhalten des Systems konnte man zwischen 2.9 und 3.0 beobachten, deshalb untersuchen wir diesen Bereich etwas genauer; hierfür betrachtet man nur noch den Plot von Ca gegen Ga. Scant man das System im Bereich 2.9...3.0 in Schritten von 0.01 durch, so kann man den Bereich dieser drastischen Änderung auf einen Bereich zwischen 2.90 und 2.94 eingrenzen. Durch stetige Verkleinerung der Schrittweite von k_2 läßt sich der Bereich schließlich auf ca 2.92583 und 2.92611 eingrenzen (Abbildung 10).

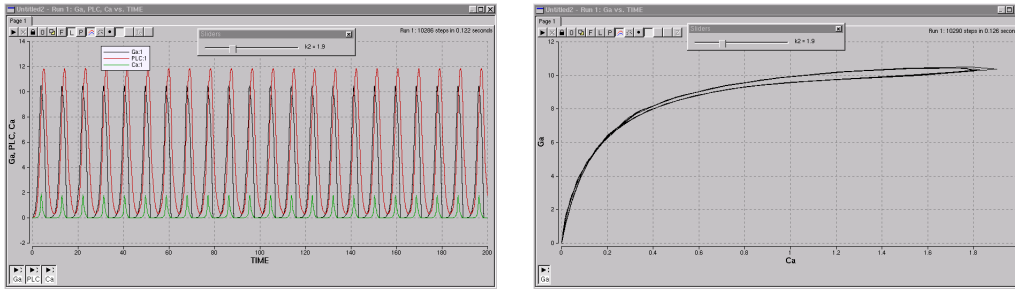


Abbildung 4: $k_2 = 1.9$

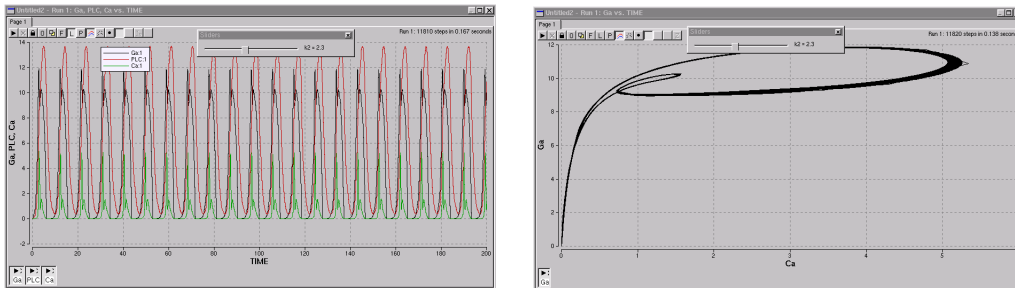


Abbildung 5: $k_2 = 2.3$

Wie man sieht besteht der Phasenplot außerhalb dieses Bereiches meist aus einer geschlossenen Kurve bzw. Schleife ab einem bestimmten Wert kommen immer mehr Schleifen dazu, bis es schließlich so aussieht, als würden die Schleifen eine Fläche komplett ausfüllen (Abbildung 10). Diese ausgefüllte Fläche stellt den Attraktor des Systems bei diesen Parametern dar bzw. genauer gesagt die Projektion des Attraktors auf die Ebenen der beiden Variablen die gegeneinander geplottet werden. Den Kompletten Attraktor für dieses System erhält man, wenn man alle drei Substanzen in einen dreidimensionalen Plot gegeneinander aufträgt (Abbildung 11).

Bei Systemen mit mehr Variablen läßt sich der Attraktor grafisch nicht mehr darstellen, sondern man kann nur noch die Projektionen betrachten.

Alle Simulationsläufe bisher wurden mit der Rosenbrock Methode zur Integration durchgeführt, da dieser Algorithmus am besten für solche Systeme geeignet ist. Nichts desto trotz wäre es auch möglich, das System z.B. mit einem Runge-Kutta Algorithmus 4. Ordnung zu lösen. Leider benötigt

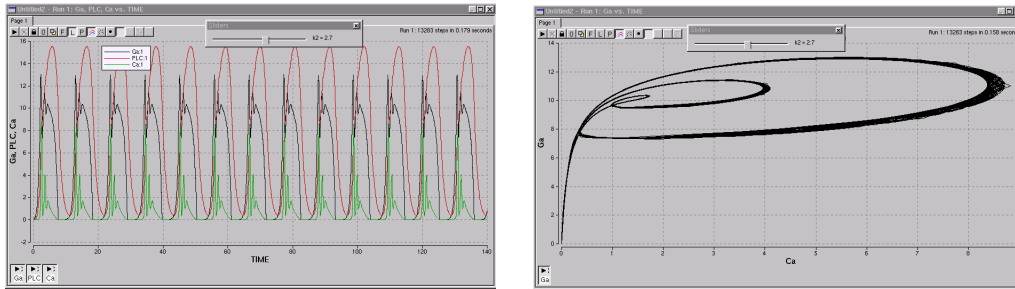


Abbildung 6: $k_2 = 2.7$

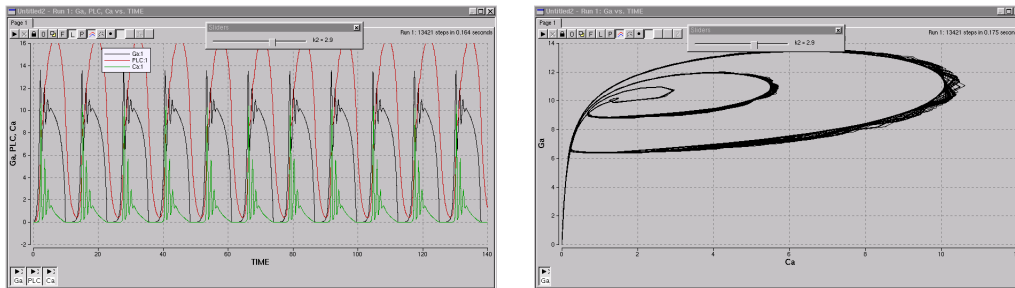


Abbildung 7: $k_2 = 2.9$

Runge-Kutta sehr viel Hauptspeicher, weshalb nur eine begrenzte Zahl von Schritten simuliert werden kann. Wie die Simulation für 1000 Sekunden zeigt, sieht man an einer Stelle, bei der mit Rosenbrock bereits deutliche Anzeichen eines Attraktor zu sehen waren, lediglich ein paar Schleifen, die auch zu einem periodischen Verhalten gehören könnten (Abbildung 12).

Der Punkt für chaotisches Verhalten findet sich mit dieser Methode also entweder an einer etwas anderen Stelle, oder das Fenster für chaotisches Verhalten ist kleiner als bei der Rosenbrock Methode.

Weshalb muß die Simulation eigentlich über 2000 Sekunden laufen? Es wäre doch mit den meisten Methode viel schneller zu rechnen wenn man die Zeit verkürzt. Verkürzt man jedoch die Zeit, so hat man weniger Datenpunkte um den Attraktor zu zeichnen, d.h. der Raum, bzw. die Fläche, die der Attraktor einnehmen würde, ist dünn besetzt und man kann nicht mehr unbedingt erkennen, daß es sich um einen Attraktor handelt (Abbildung 13). Bei dieser 100 Sekunden langen Simulation kann man noch erahnen, dass es

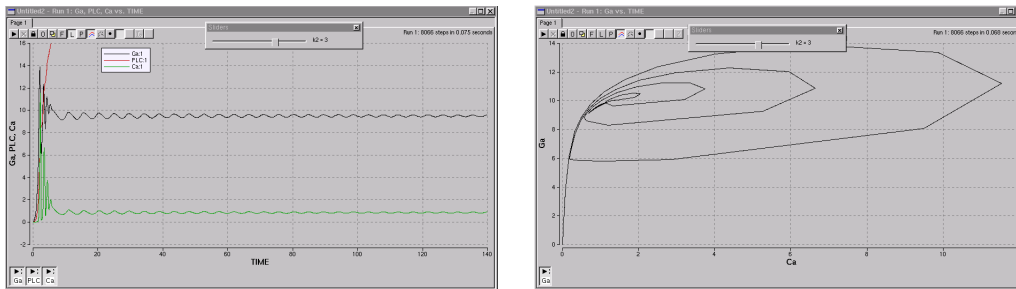


Abbildung 8: $k_2 = 3.0$

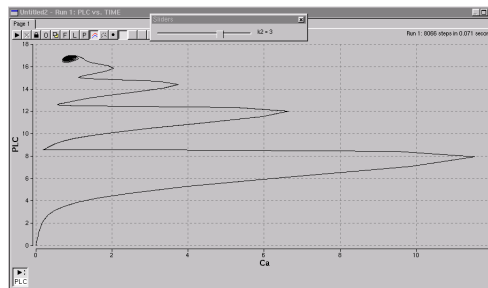


Abbildung 9: $k_2 = 3.0$

sich um einen Attraktor handelt, simuliert man aber nur 12 Sekunden, wie in Madonna voreingestellt, dann ist dies nicht mehr ersichtlich. Generell kann man sagen, je länger die Simulation desto besser kann man den Attraktor erkennen.

Für alle die sich noch etwas intensiver mit dem Thema beschäftigen möchten sind im Literaturverzeichnis noch zwei Bücher angegeben.

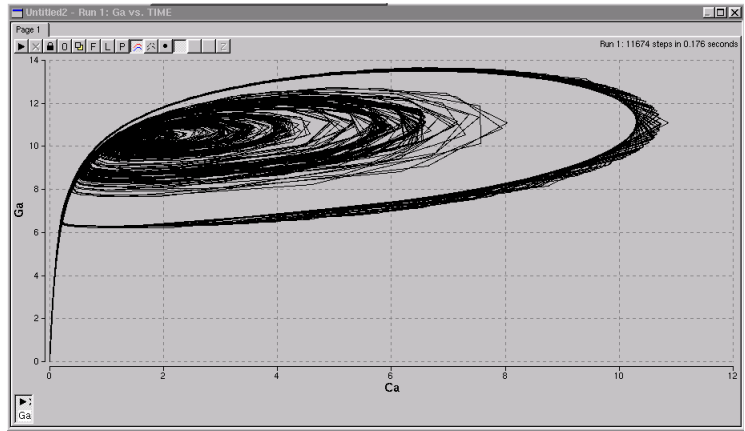


Abbildung 10: Projektion des Attraktors auf die Ebene von G_α und Ca^{2+} bei $k_2 = 2.92595$

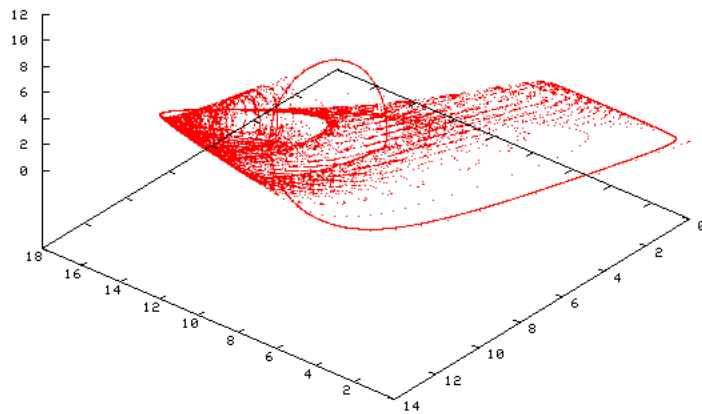


Abbildung 11: 3D Plot des Attraktors

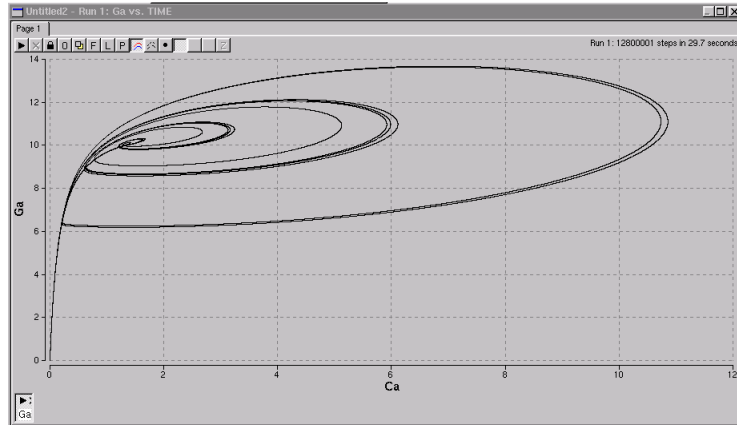


Abbildung 12: Plot von G_α gegen Ca^{2+} für Simulation mit Runge-Kutta 4. Ordnung

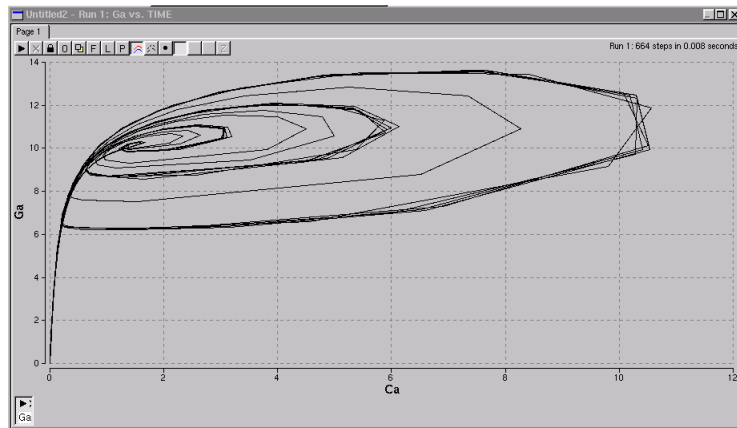


Abbildung 13: Attraktor Projektion mit zu wenig Datenpunkten

Literaturverzeichnis

- [1] Friedmann W. Schneider / Arno F. Münster: Nichtlineare Dynamic in der Chemie (1996), Spektrum Akademischer Verlag
- [2] Albert Goldbeter: Biochemical Oscilations and Cellular Rhythms (1996), Cambridge University Press