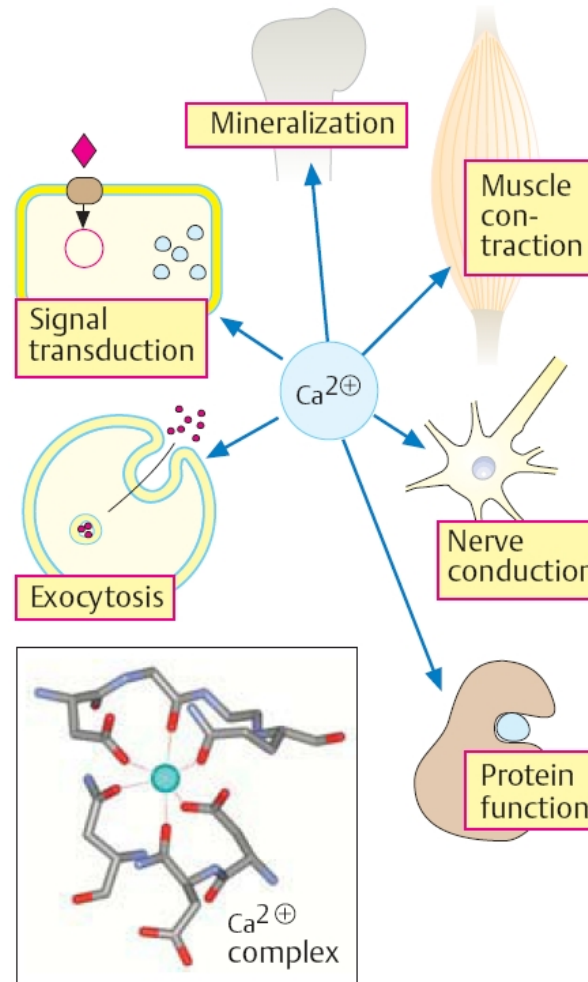

Kalzium-Oszillationen

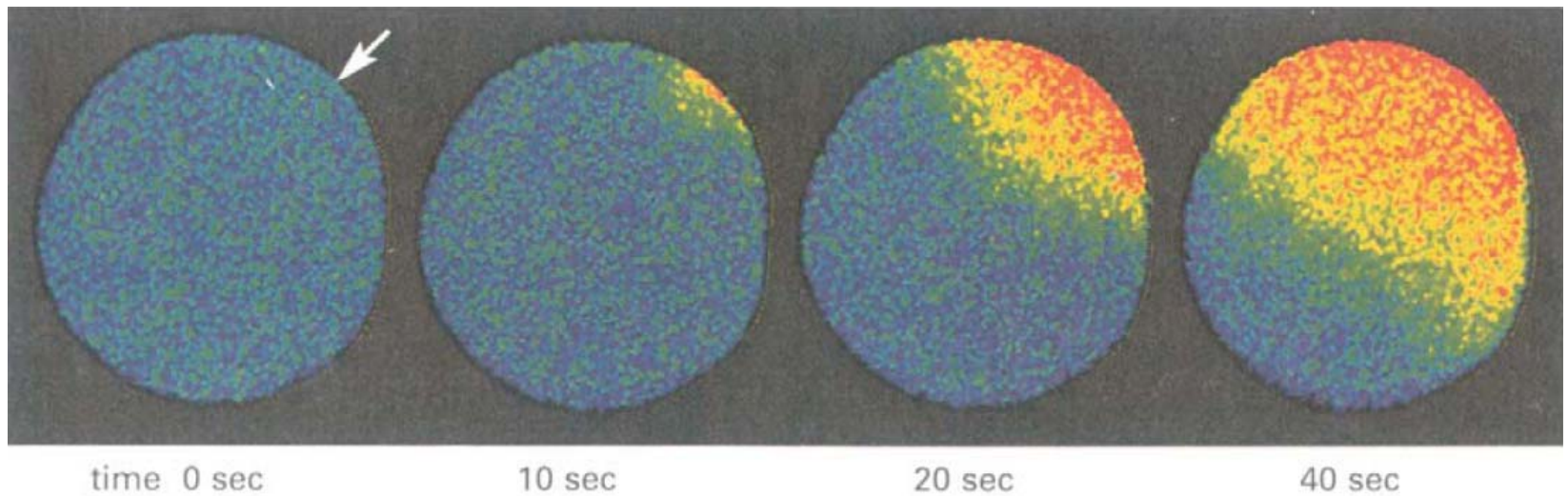
„Wie Zellen denken“ WS 05/06
Christian Senger und Sebastian Köhler

Kalzium im Organismus



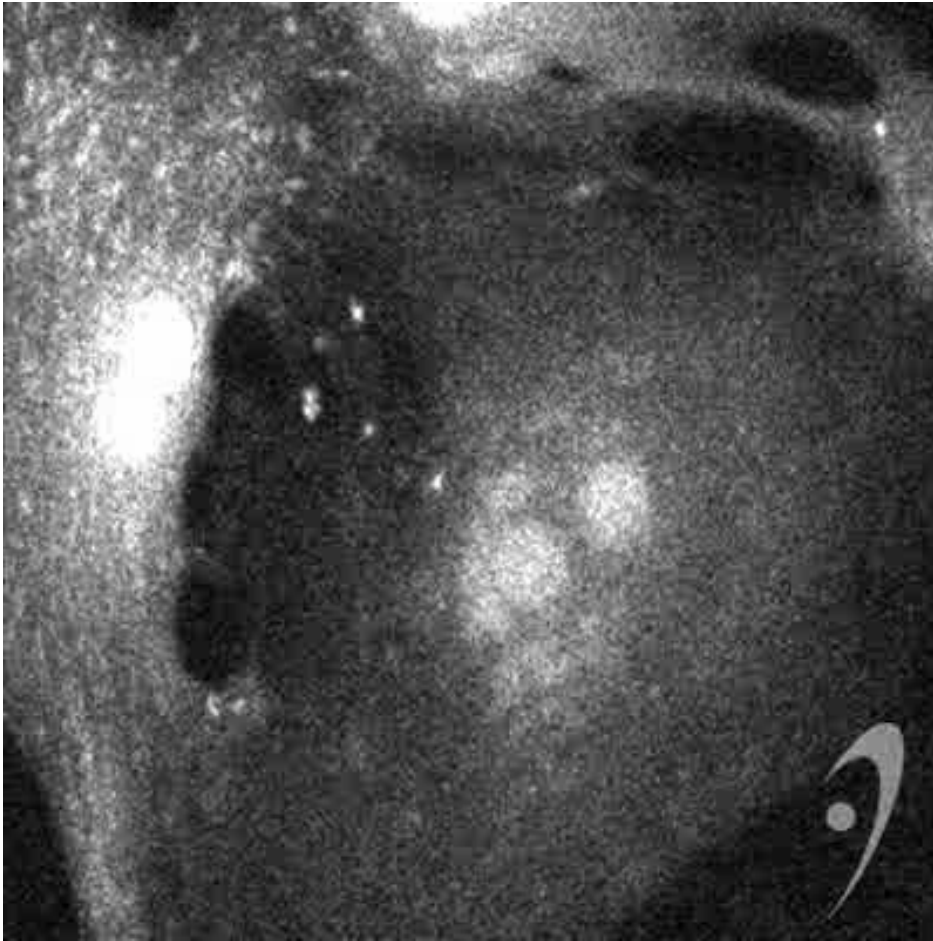
Quelle: J. Koolman, K.H. Röhm, Color Atlas of Biochemistry

Beispiel der Funktion



Quelle: http://www.biologie.uni-regensburg.de/Biochemie/Deutzmann/Hormon_SS05/G_Prot/Ca_Signaling_web.pdf

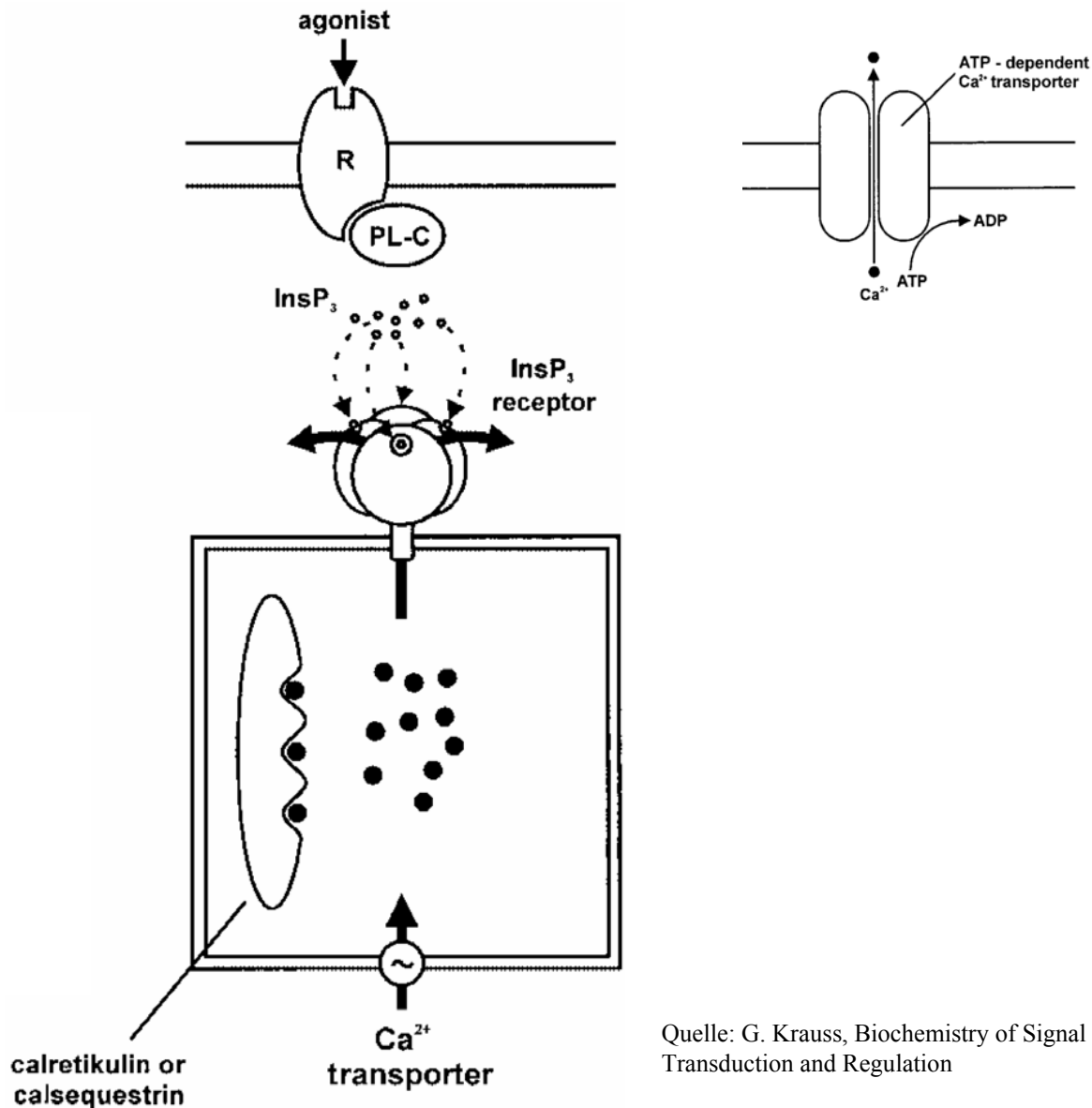
Was sind Ca^{2+} -Oszillationen ?



- Zellen halten cytosolische Kalzium-Konzentration gering
- Signal
→ Anstieg der Konzentration
- Kann sich periodisch wiederholen

Quelle: http://atto.com/products/carvII/image_gallery.shtml

Steuerung der Kalzium-Konzentration

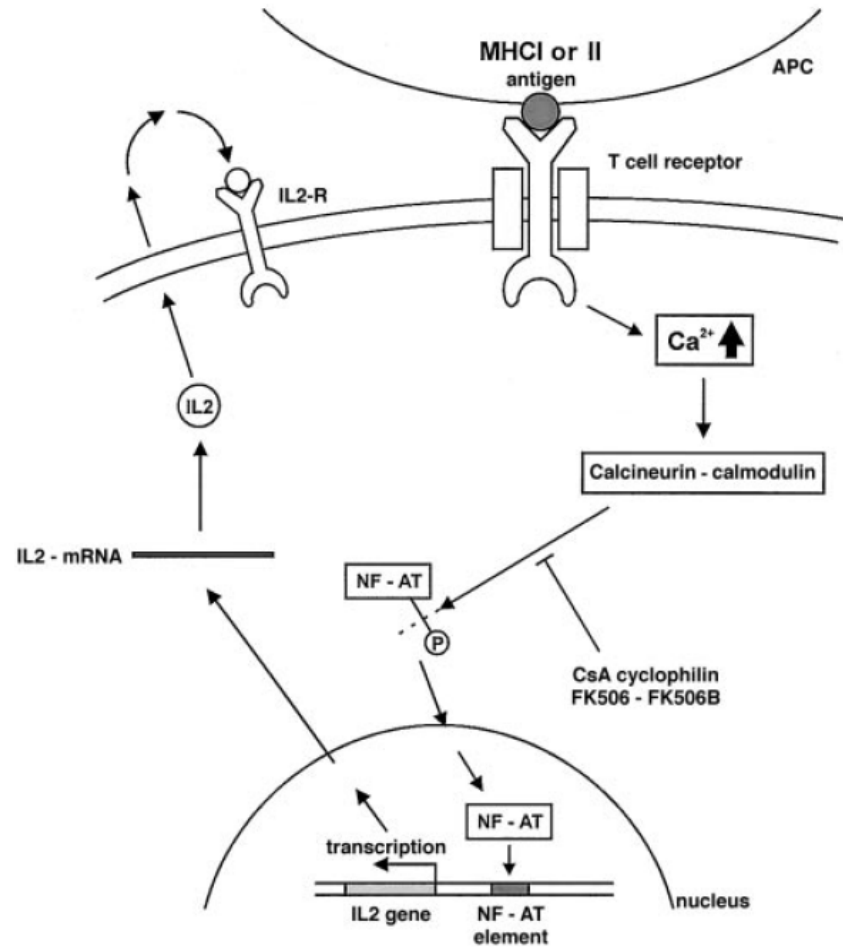
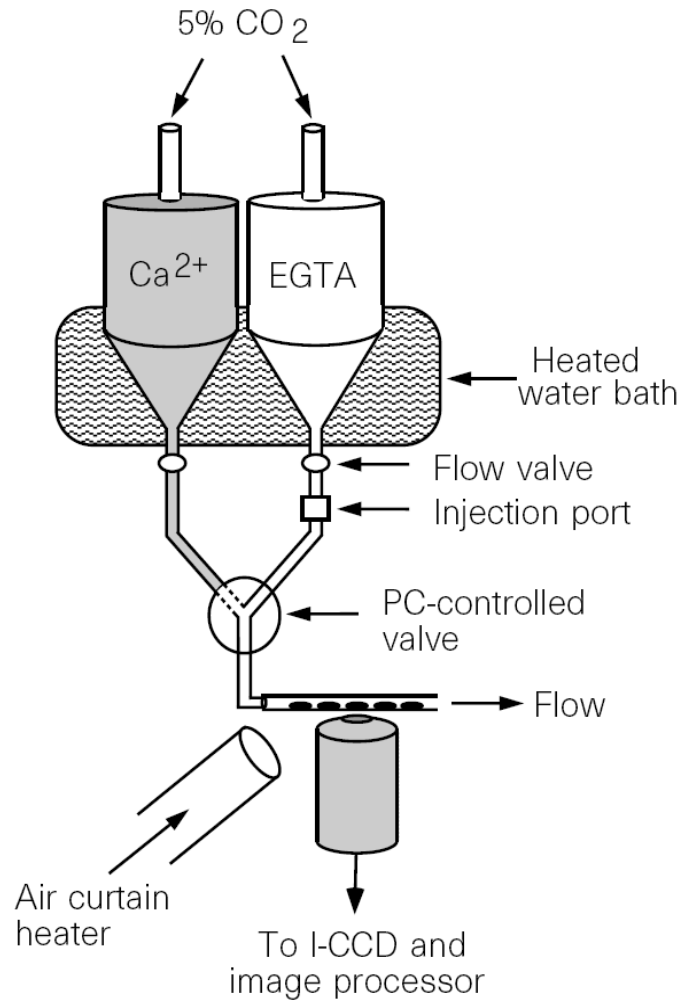


Quelle: G. Krauss, Biochemistry of Signal Transduction and Regulation

Aktueller Wissenstand

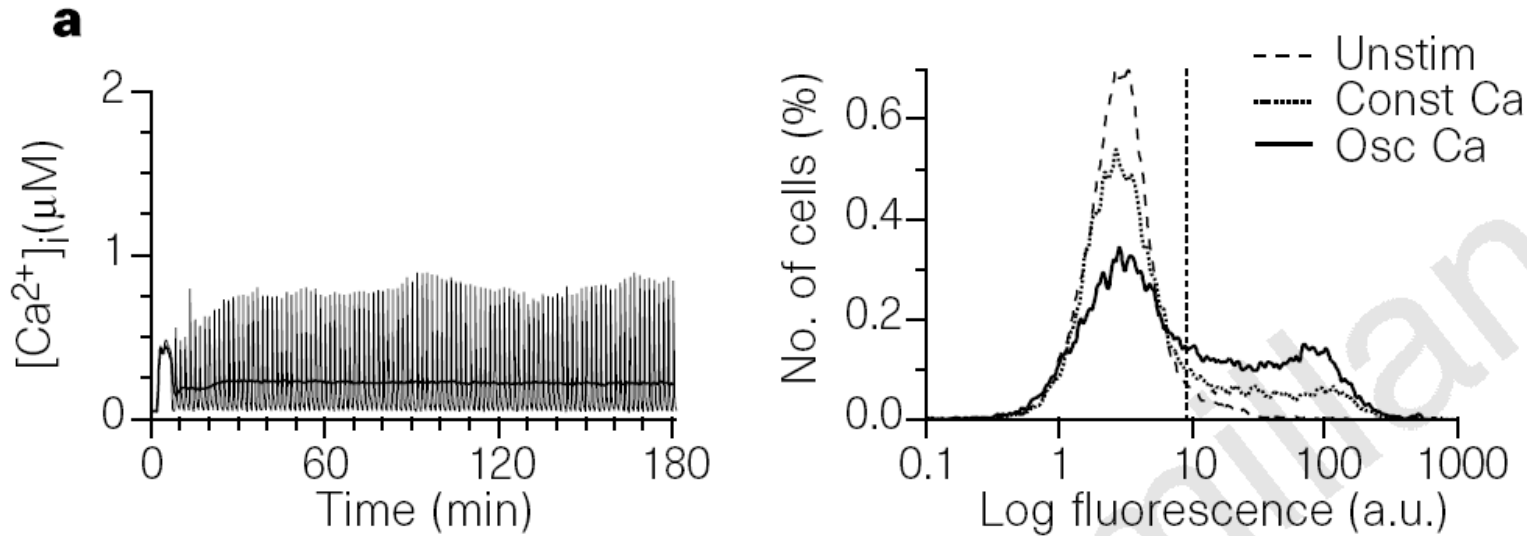
- Oszillationen unterstützen Signalwege
 - Genauigkeit (low-level-Signale)
 - Erhalten der Sensibilität
 - Spezifität der Signale
- Untersuchung problematisch
 - Amplitude und Frequenz variieren von Zelle zu Zelle und über die Zeit
 - Oberflächen-Rezeptoren regulieren verschieden Signalwege
→ Downstream-Effekte der Kalzium-Ionen ?

Method



Quelle: G. Krauss, Biochemistry of Signal Transduction and Regulation

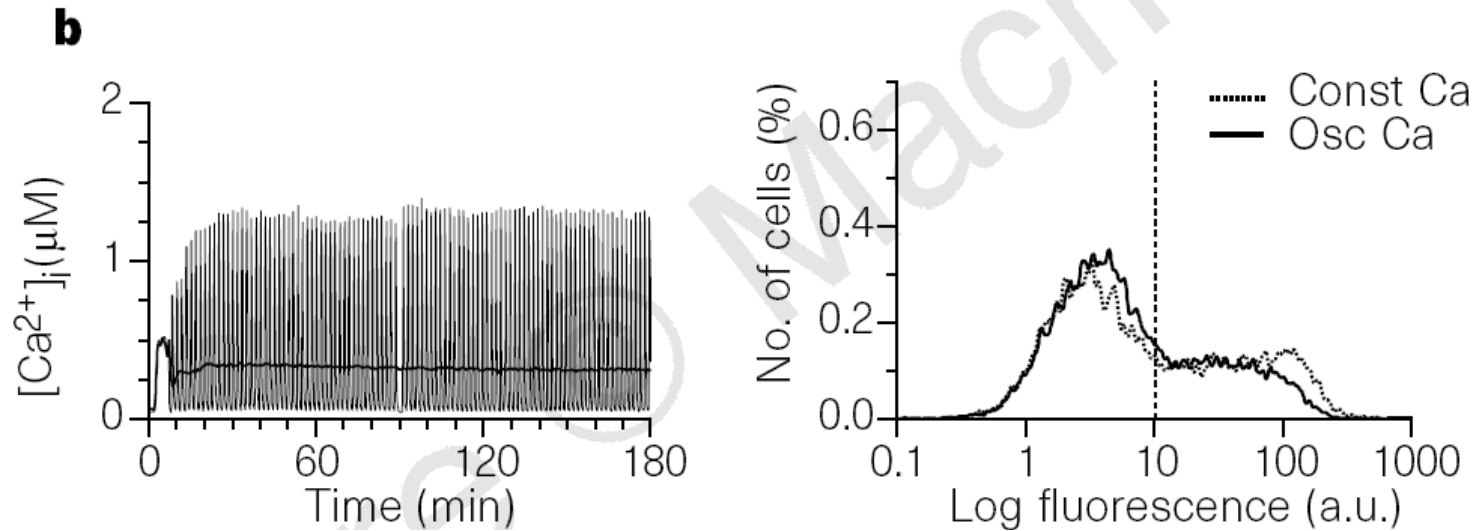
Effizienz-Kontrolle



→ Konstant: nur 19% hatten TF an

→ Oszillation: 39%

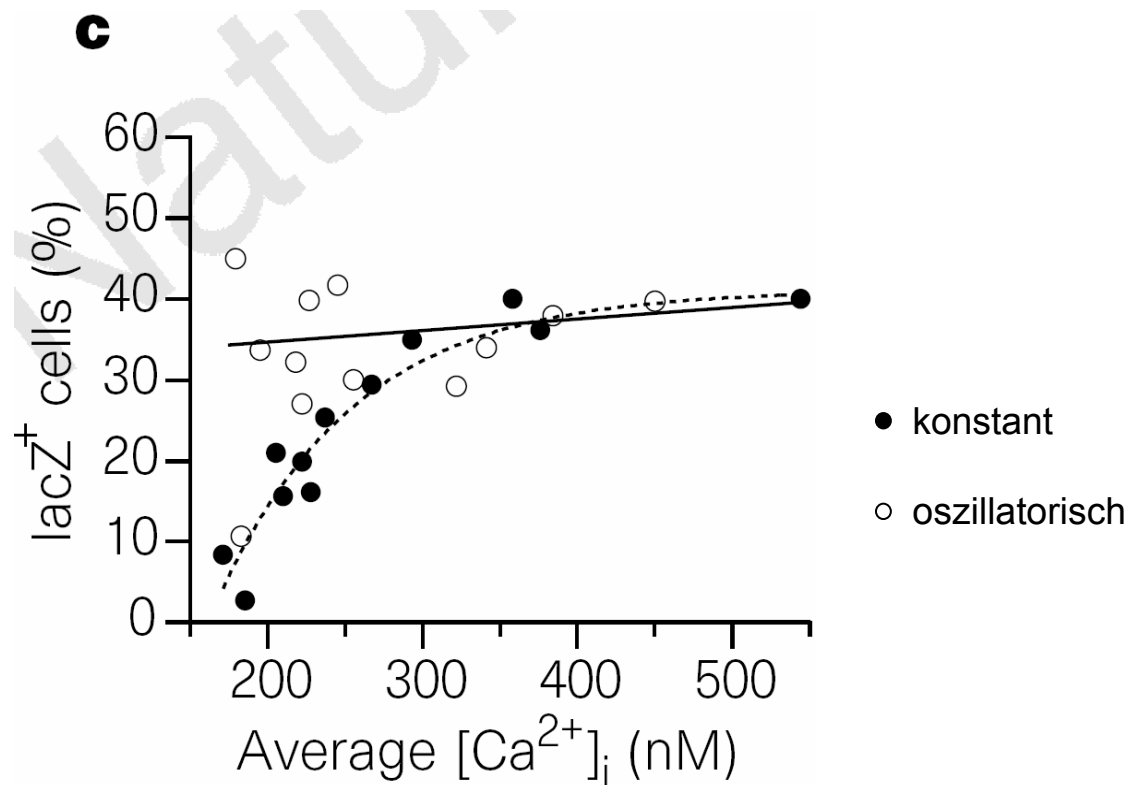
Effizienz-Kontrolle



- Höhere Konzentrationen
→ Effekt verschwindet

Effizienz-Kontrolle

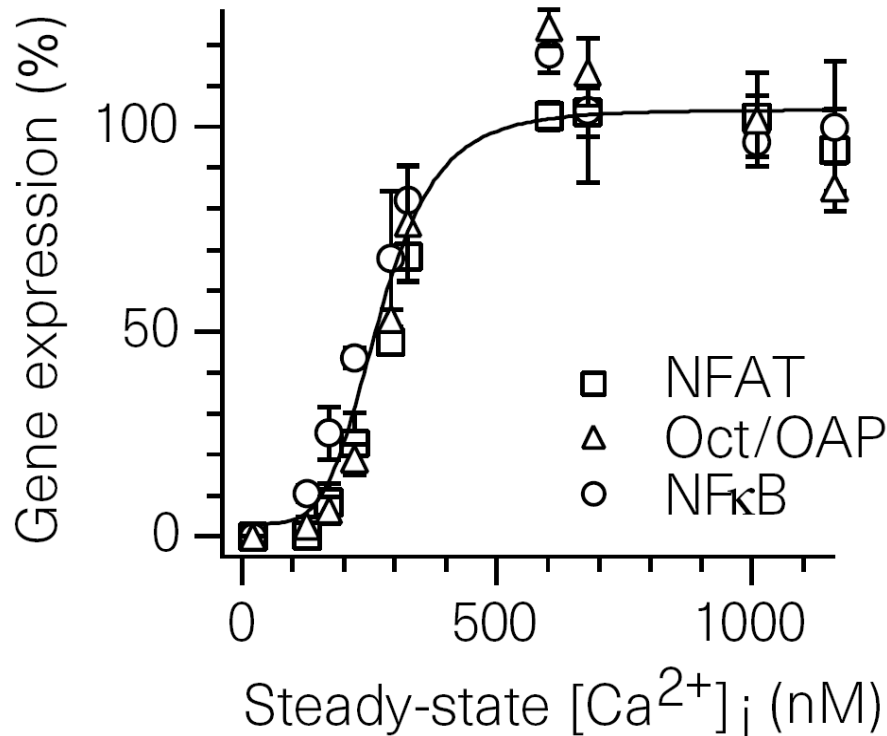
- Niedrigere Konzentrationen
→ Unterschiede werden signifikanter



Spezifität

- Hypothese: **Amplitude** oder **Frequenz** codiert diese Information
- Signalwege die Ca^{2+} -abhängig sind:
 - NF-AT
 - NF- κ B
 - Oct/OAP

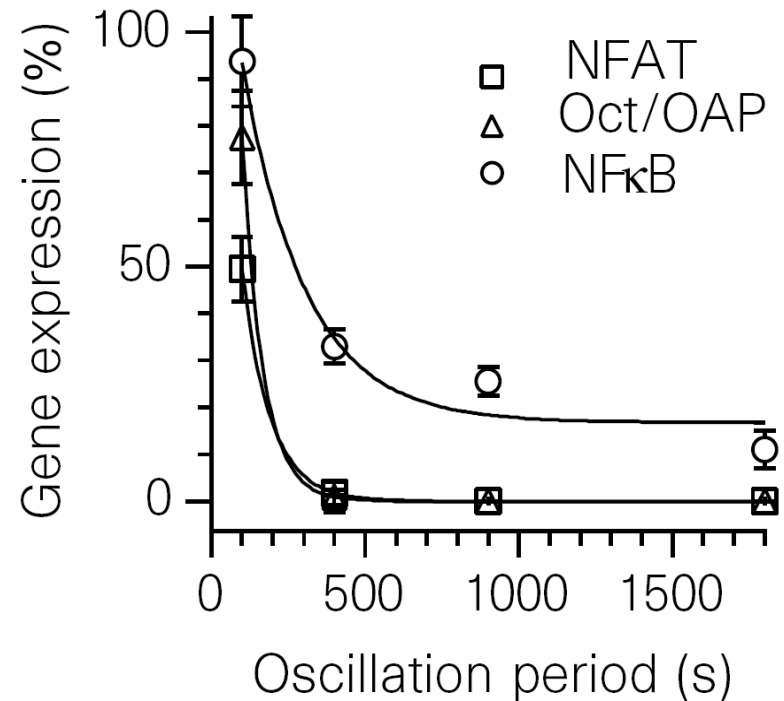
Spezifität - Amplitude



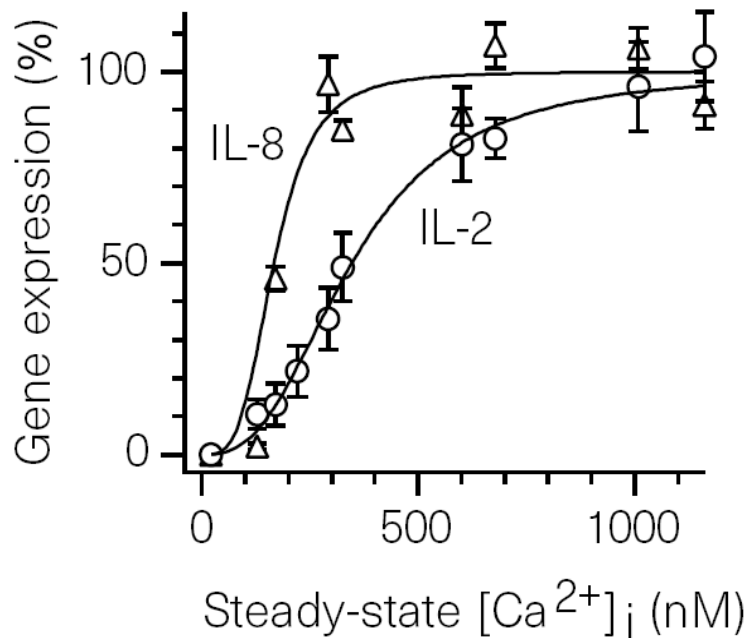
→ Spezifität nicht in Amplitude der Oszillationen kodiert

Spezifität - Frequenz

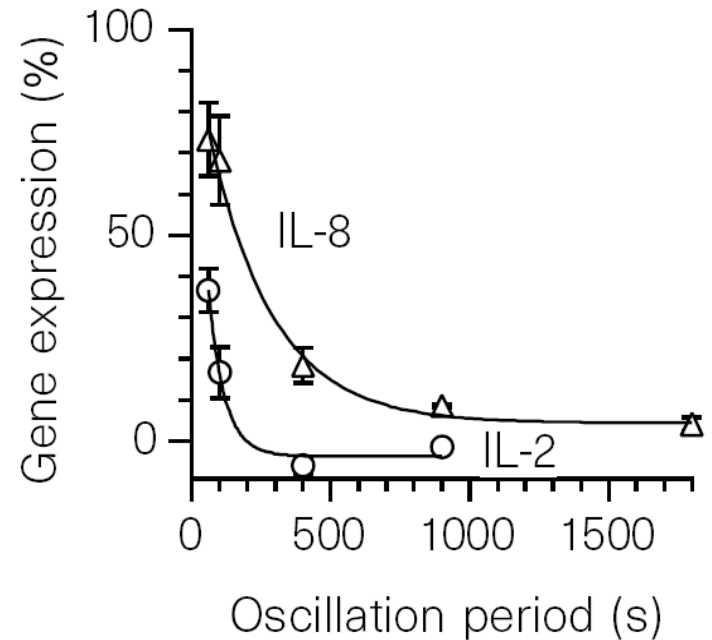
- Frequenz codiert Signalwege
- Niedrige Frequenzen aktivieren lediglich NF- κ B
- Hohe Frequenzen aktivieren hingegen alle drei TF's



Spezifität - Frequenz



→ Konstantes Signal unterscheidet kaum



→ Oszillation kann spezifisch Signalweg aktivieren

Ergebnisse

- Effektivitätskontrolle der Genexpression bei niedrigen Stimulationen
- Oszillationen ermöglichen es, dass Kalzium spezifisch Signalwege ansprechen kann
- Werkzeug um Zellen in bestimmte Entwicklungsphase zu lenken

Quellen

- Calcium oscillations increase the efficiency and specificity of gene expression

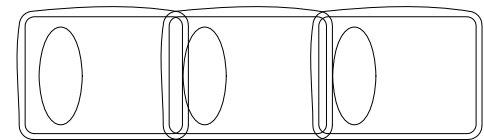
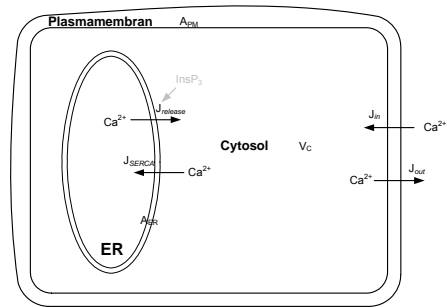
Ricardo E. Dolmetsch, Keli Xu, Richard S. Lewis; Nature 392; 1998

- G. Krauss, Biochemistry of Signal Transduction and Regulation

Von der Zelle zum Modell zu vielen Zellen



Quelle:
www.siumed.edu/~dking2/erg/resource/session2.htm



Kalzium-Oszillationen in Hepatozyten: Synchronisation heterogener Zellen

Artikel von Thomas Höfer,

Model of Intercellular Calcium Oscillations in Hepatocytes:
Synchronization of Heterogenous Cells

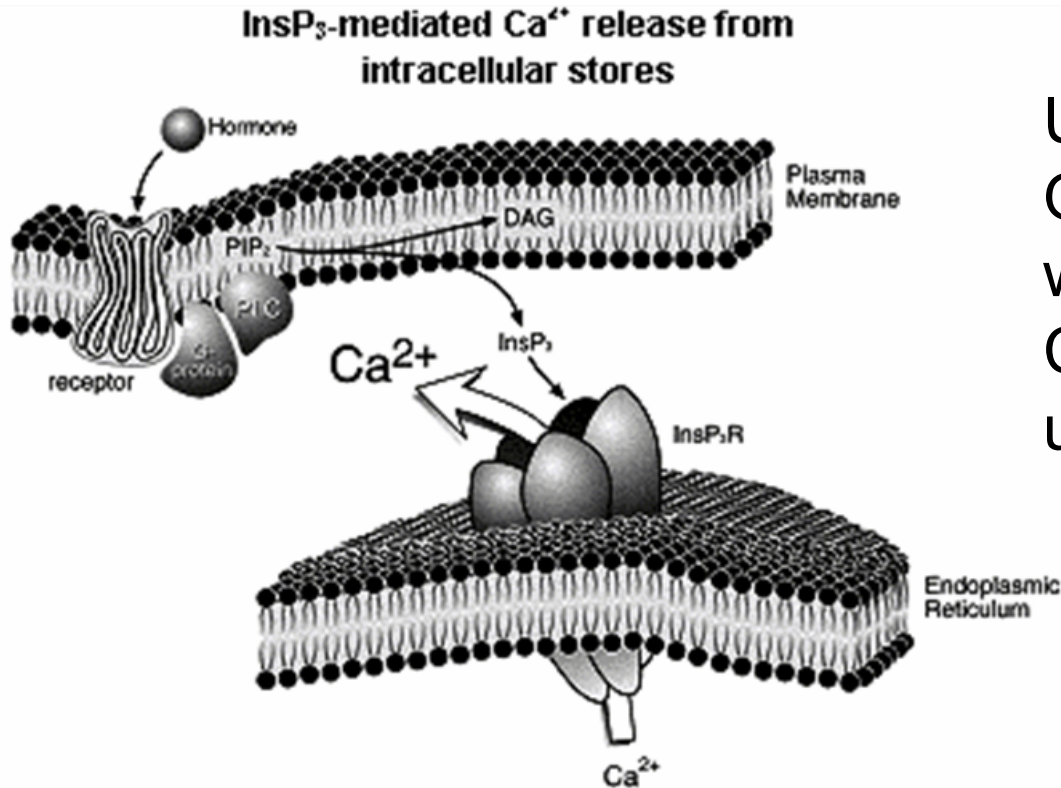
Biophysical Journal, Vol. 77, September 1999, 1244-1256

Kalziumoszillation in der Zelle

Modellannahmen:

Unterschiedliche Oszillationsfrequenzen werden beeinflusst durch Ca^{2+} -Flüsse, -Speicher und Gap-Junctions

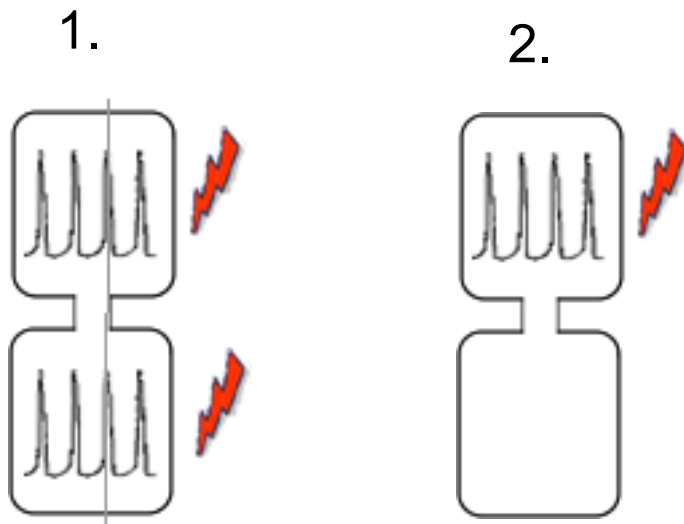
Kein Feedback über InsP_3



Quelle: <http://info.med.yale.edu/pharm/hermen/insp3projects.html>

Experimentelle Untersuchung der Synchronität an Zellpaaren/-triplets

(Tordjmann et al., 1997)



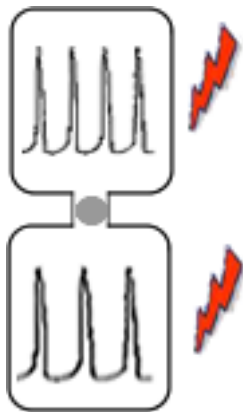
gleichmäßige hormonelle Stimulation der Hepatozyten mit Gap-Junctions führt zu fast synchronen Oszillationen;
1:1 Peaks mit <10% Phasenverschiebung

Lokale Stimulation einer Zelle führt nur zur Oszillation in dieser Zelle

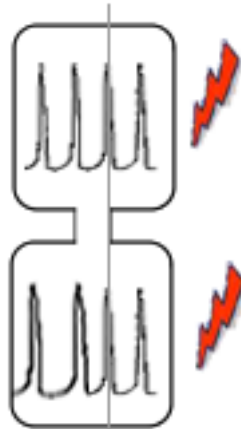
Experimentelle Untersuchung der Synchronität an Zellpaaren/-triplets

(Tordjmann et al., 1997)

3.



4.



Blockierung der Gap-Junctions führt zu sofortigem Synchronitätsverlust

Nach dem Aufheben der Blockierung wird die Synchronität innerhalb weniger Zyklen wiederhergestellt

Die Zelle, die ungekoppelt die schnellsten Oszillationen zeigt, scheint die Geschwindigkeiten aller Zellen vorzugeben, wenn gekoppelt.

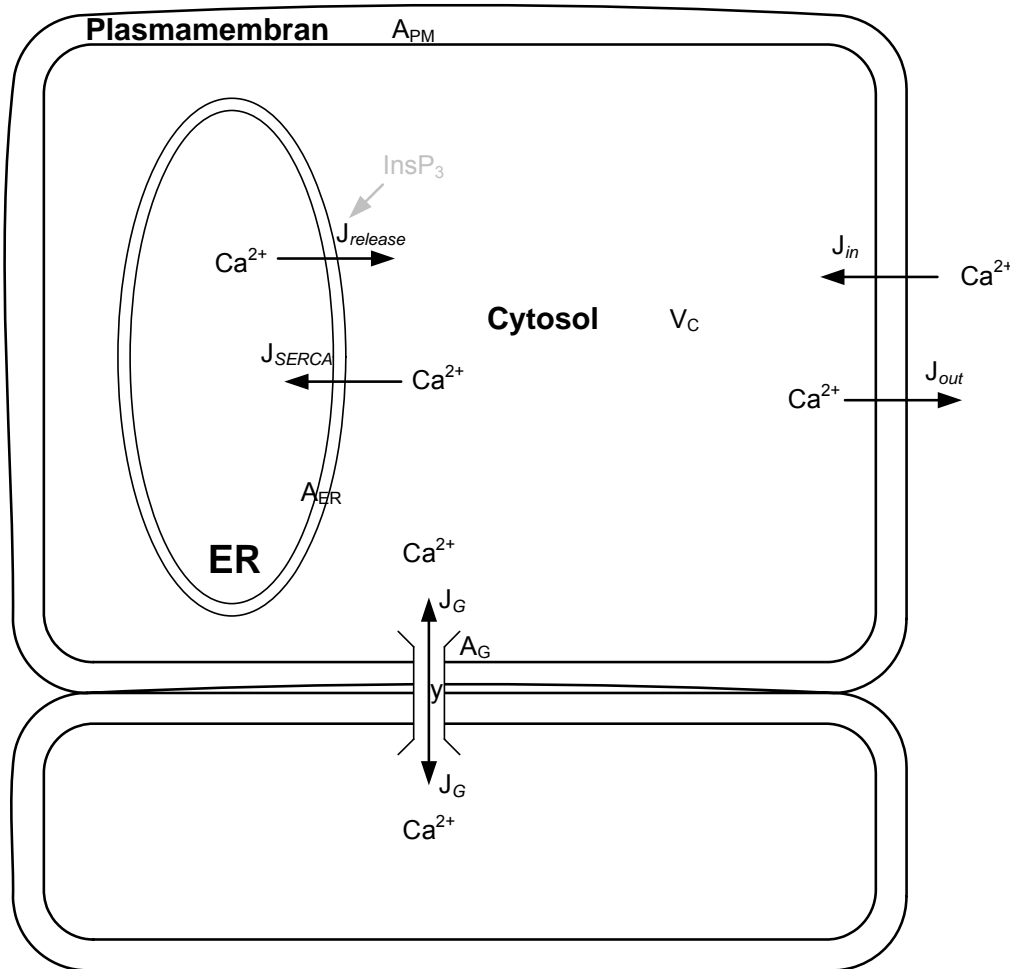
5. $v_1 > v_2$

$v_2 \approx v_1$

Findet die Synchronisation der Kalziumoszillationen durch die Ca^{2+} -Flüsse durch die Gap-Junctions statt?

Unter welchen Bedingungen können sich Zellen mit sehr unterschiedlichen intrinsischen Frequenzen synchronisieren?

Das Hepatozyten-Modell

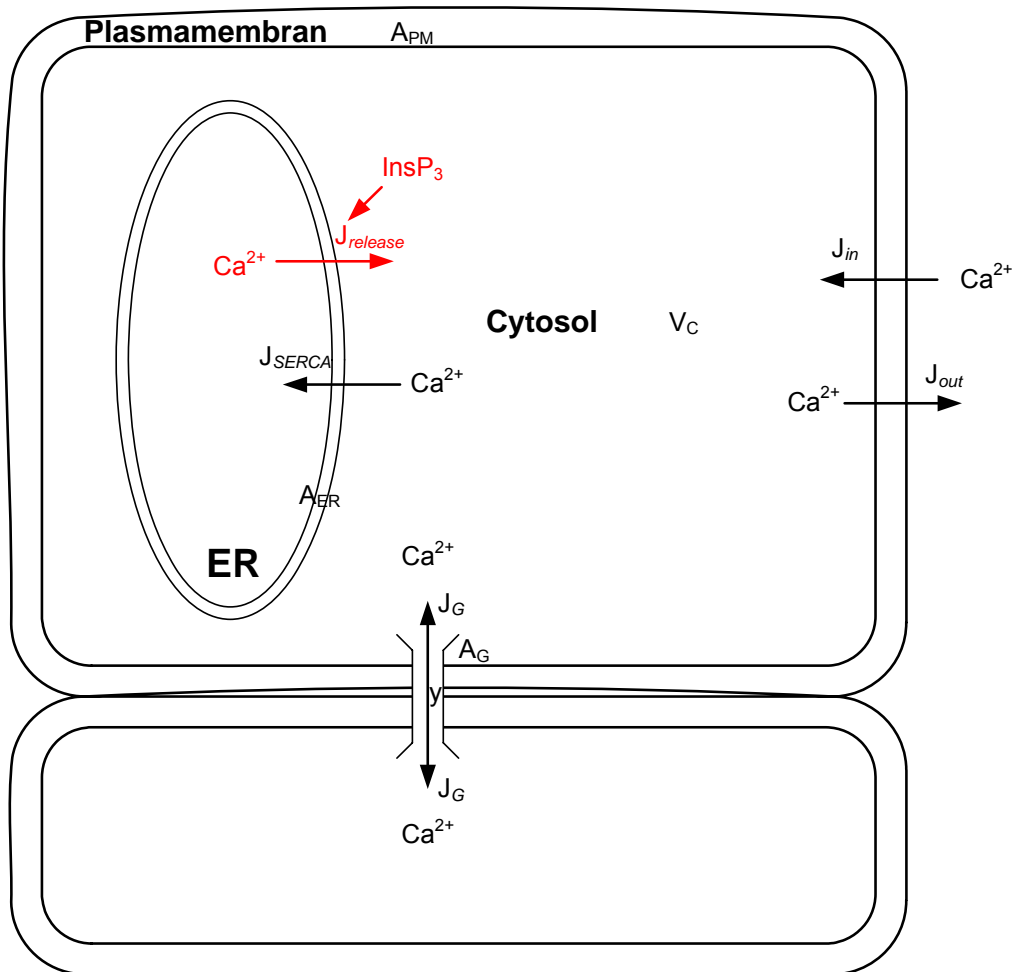


$$\frac{dx}{dt} = \frac{A_{PM}}{C_C} (J_{in} - J_{out}) + \frac{A_{ER}}{C_C} (J_{rel} - J_{SERCA}) + \frac{A_G}{C_C} J_C$$

$$C_C = V_C \left(1 + \frac{B_0}{K_B} \right)$$

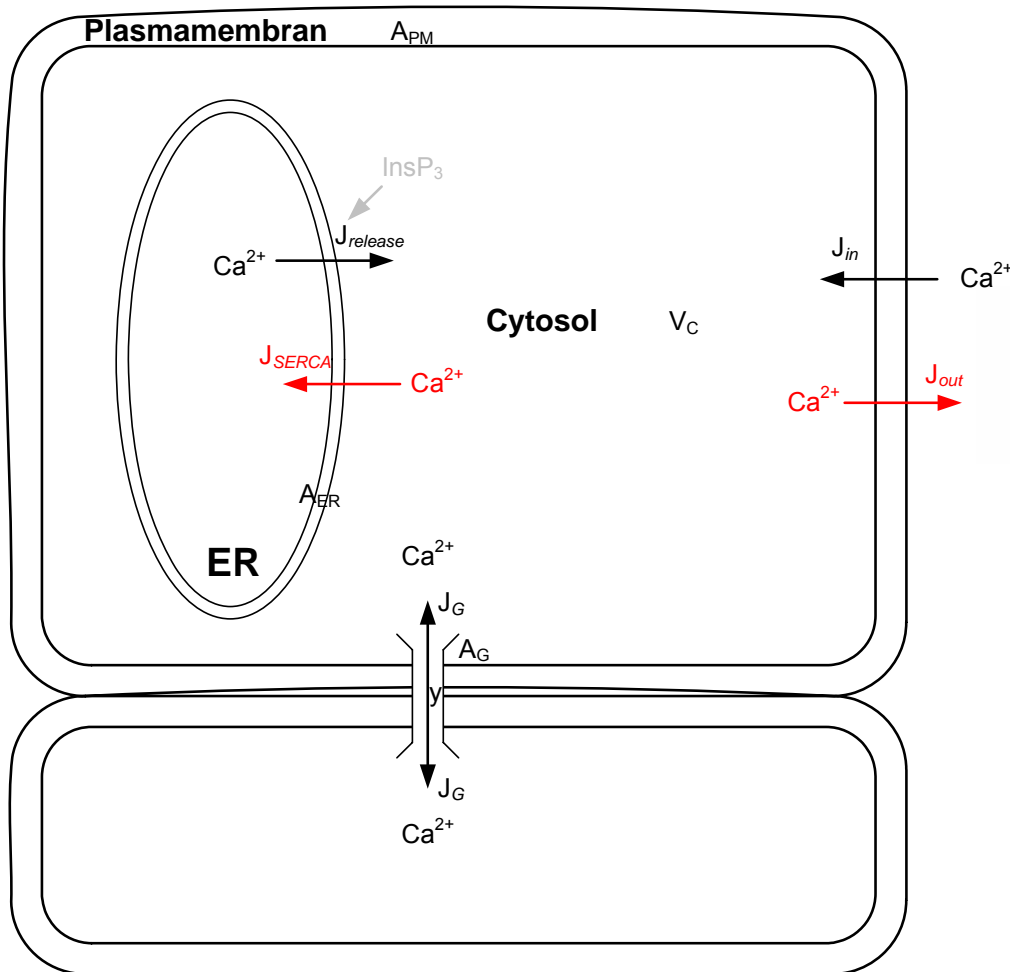
$$\frac{dz}{dt} = \frac{A_{PM}}{C_C} (J_{in} - J_{out}) + \frac{A_G}{C_C} J_G$$

ER-Release



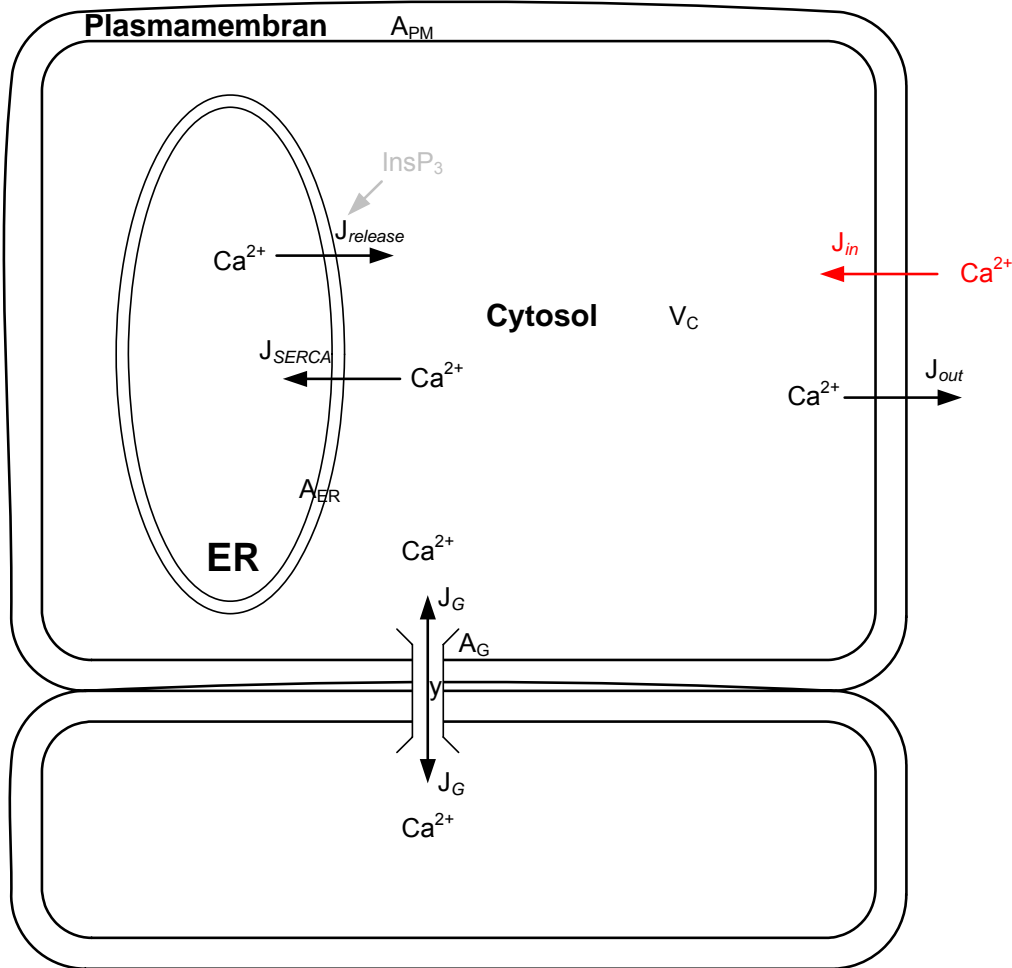
$$J_{rel} = [k_1(m_{\infty}(P, x)w)^3 + k_2](y - x)$$

ER-Aufnahme und Efflux über die Plasmamembran



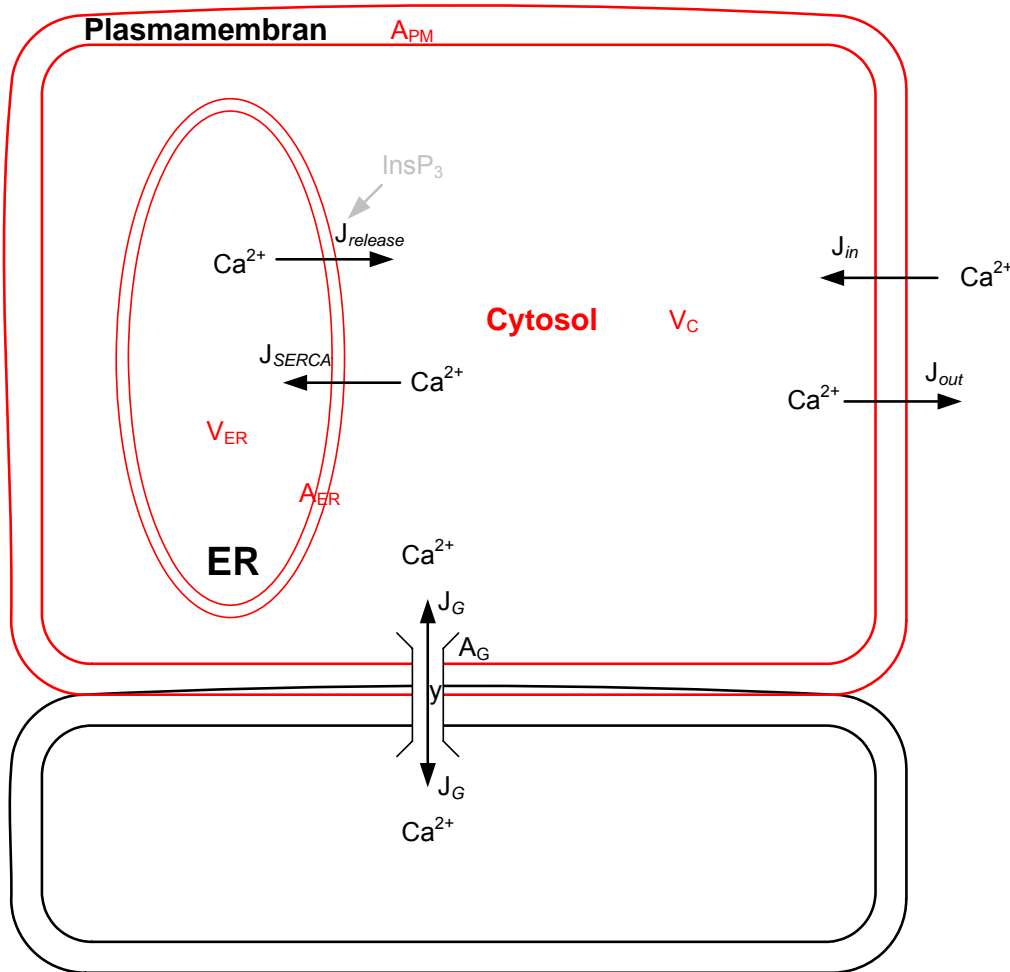
$$J_{SERCA} = v_3 \frac{x^2}{K_3^2 + x^2}, \quad J_{out} = v_4 \frac{x^2}{K_4^2 + x^2}$$

Kalzium-Einfluss



$$J_{in} = v_0 + v_c \frac{P}{K_0 + P}$$

Strukturelle Parameter



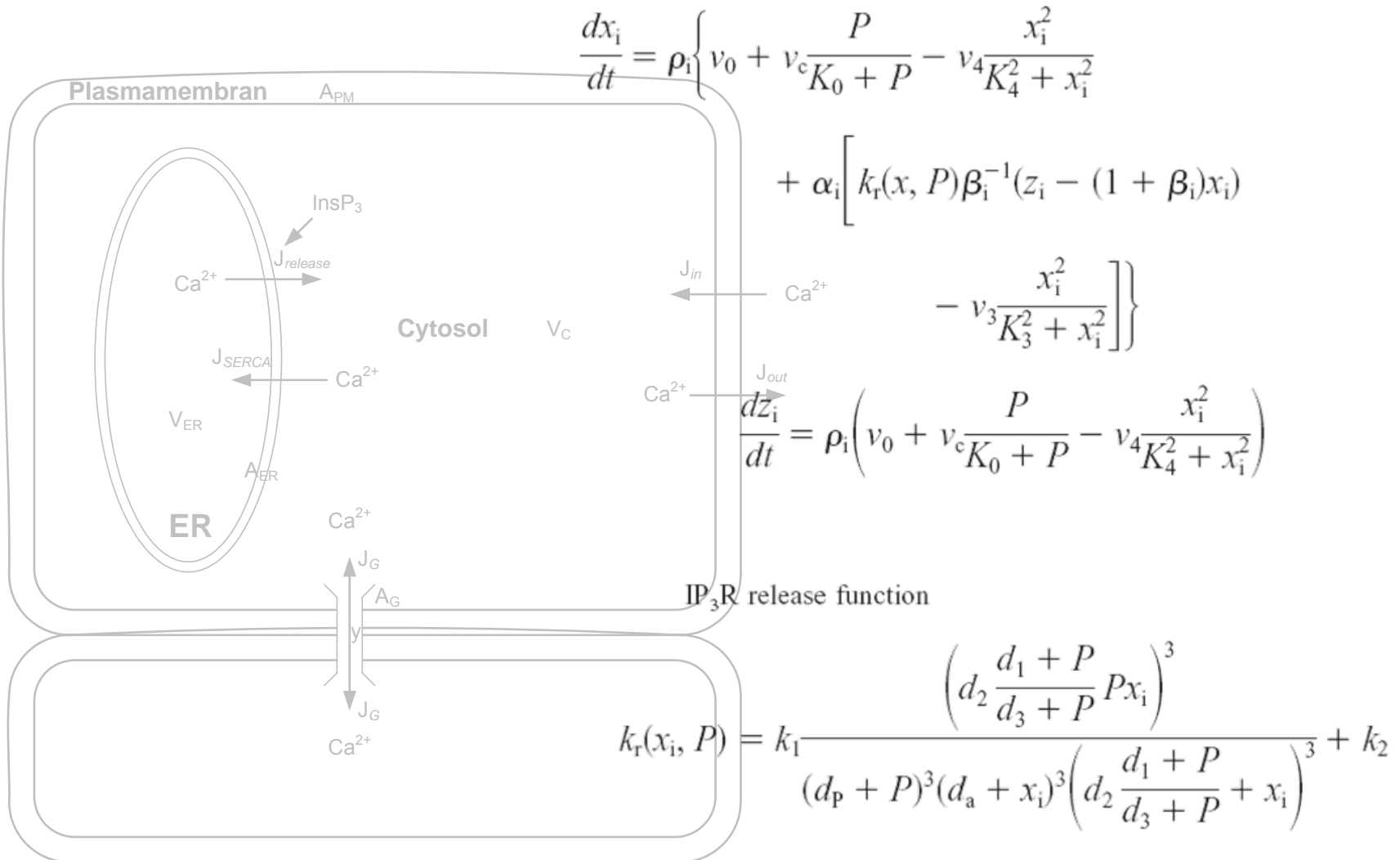
$$\rho = \frac{A_{PM}}{C_C}$$

$$\alpha = \frac{A_{ER}}{A_{PM}}$$

$$\beta = \frac{C_{ER}}{C_C}$$

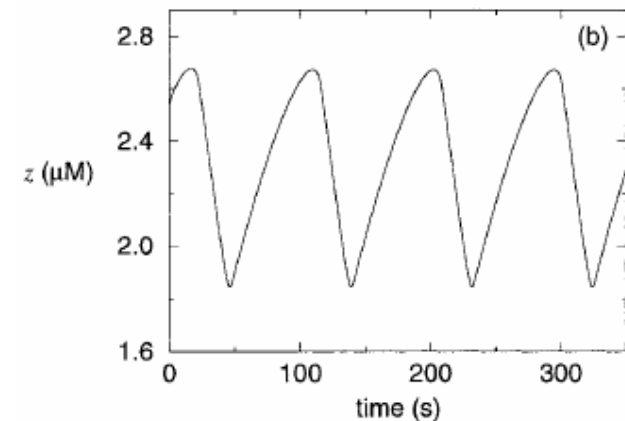
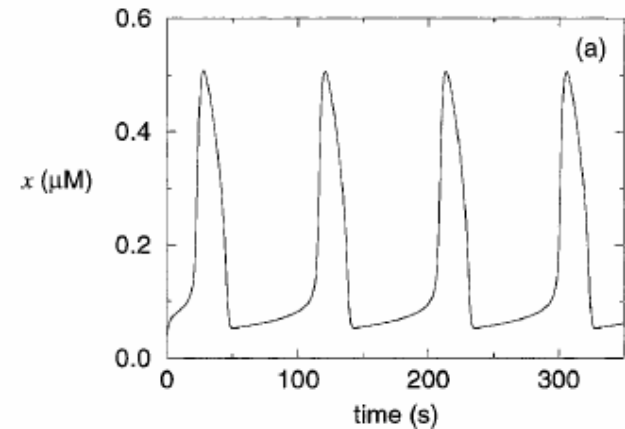
$$C_C = V_C \left(1 + \frac{B_0}{K_B} \right)$$

Das Gesamt-Modell

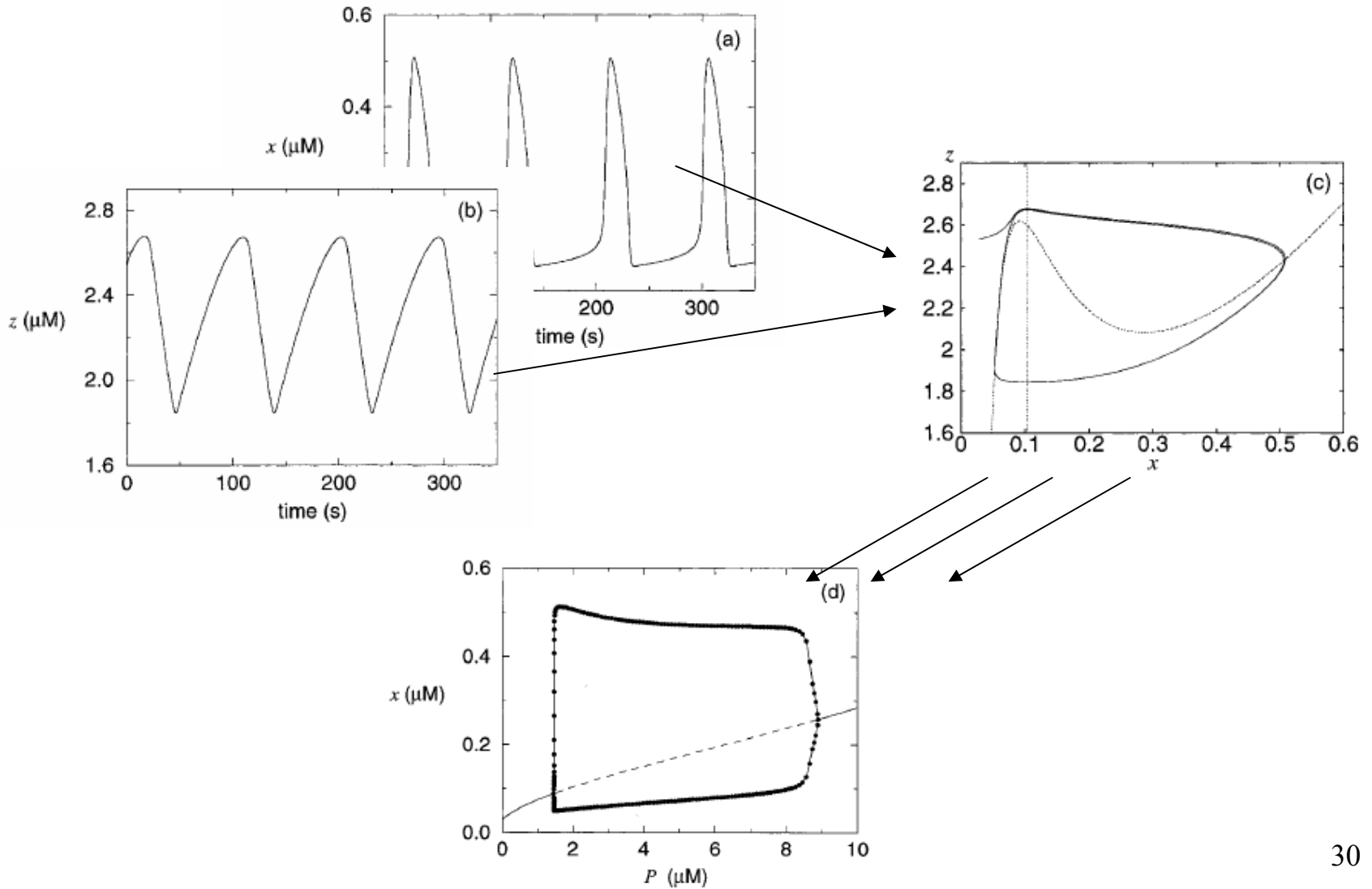


Oszillationen

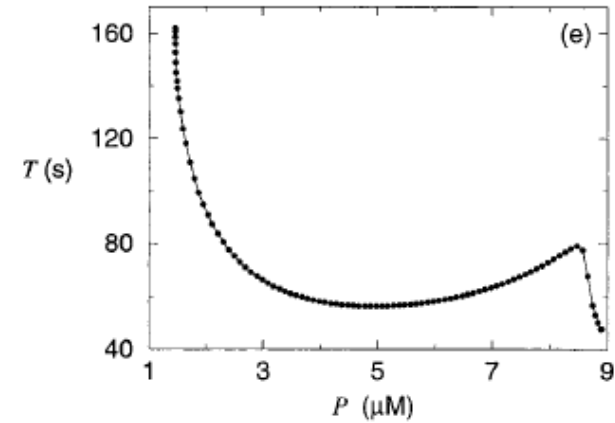
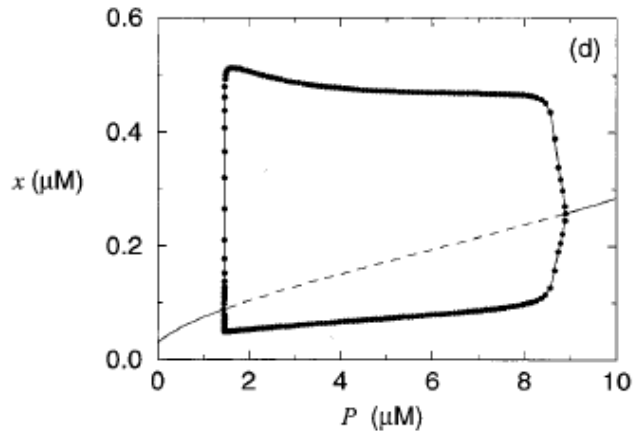
- Zytoplasmische Oszillationen + phasenverschobene Oszillationen im ER
- Erhöhung der Agonisten-Konzentration → Erhöhung der Frequenz
- Periodendauer ~30s bis 3min
- Spikedauer ~10s
- Agonisten-Konzentrationsabhängige Latenzzeit bis zum Einsetzen der Oszillation



Oszillationen

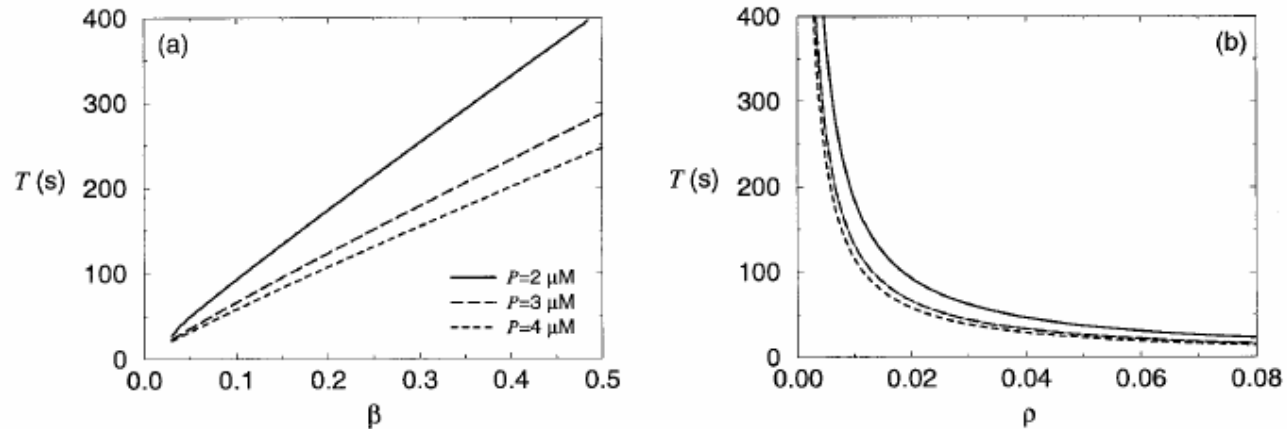


Agonisten-Abhängigkeit



- Kritischer Bereich der InsP₃-Konzentration, in dem das Kalzium oszilliert
- Periodendauer ist abhängig von der InsP₃-Konzentration

Strukturelle Parameter, Oszillation

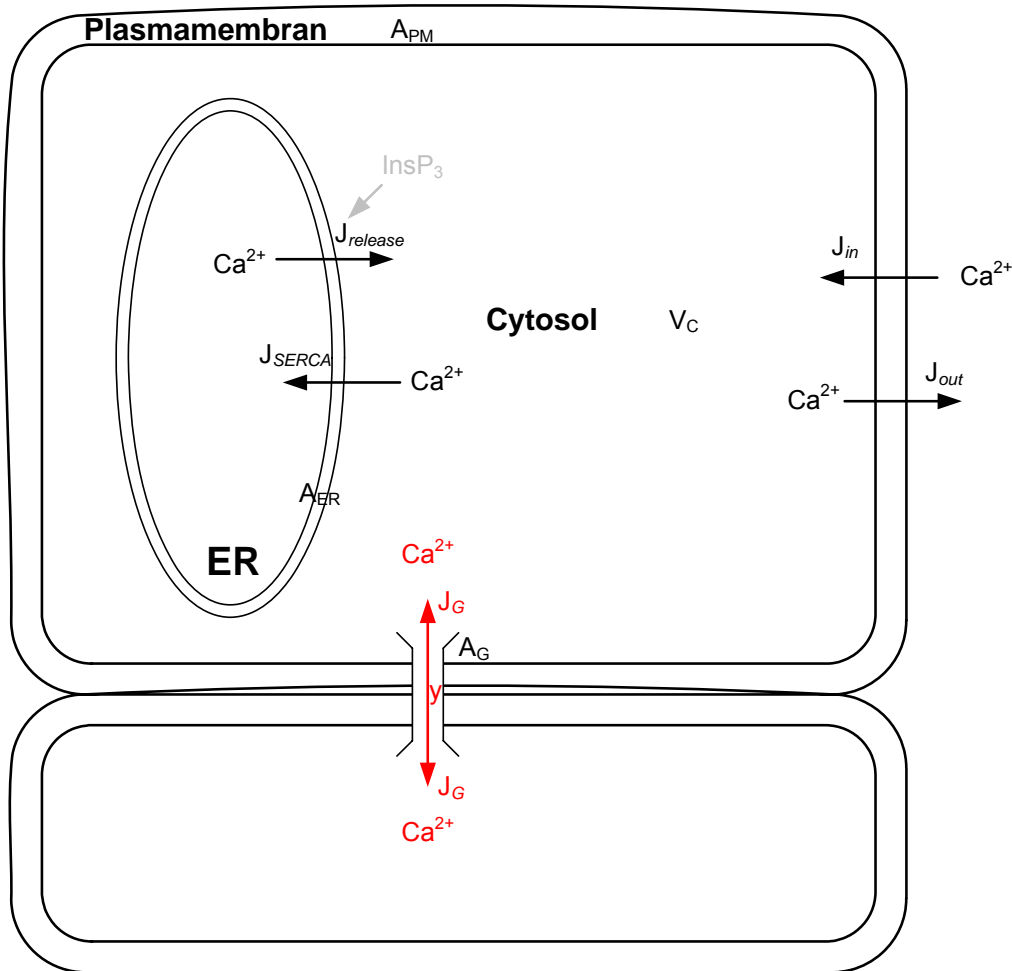


$$\beta = \frac{C_{\text{ER}}}{C_{\text{C}}}$$

- Strukturelle Parameter bestimmen die intrinsische Frequenz

$$\rho = \frac{A_{\text{PM}}}{C_{\text{C}}}$$

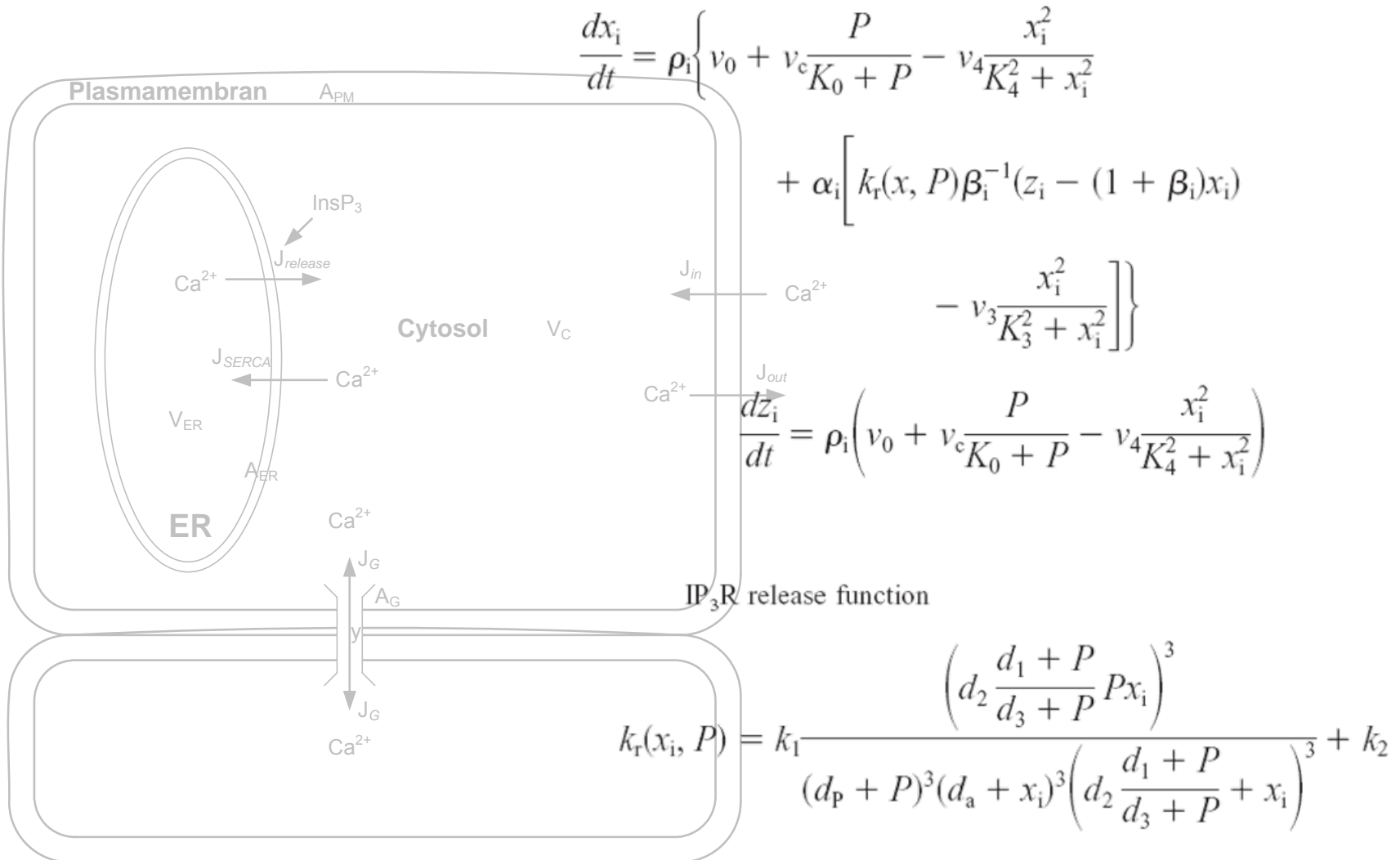
Gap-Junction-Fluss



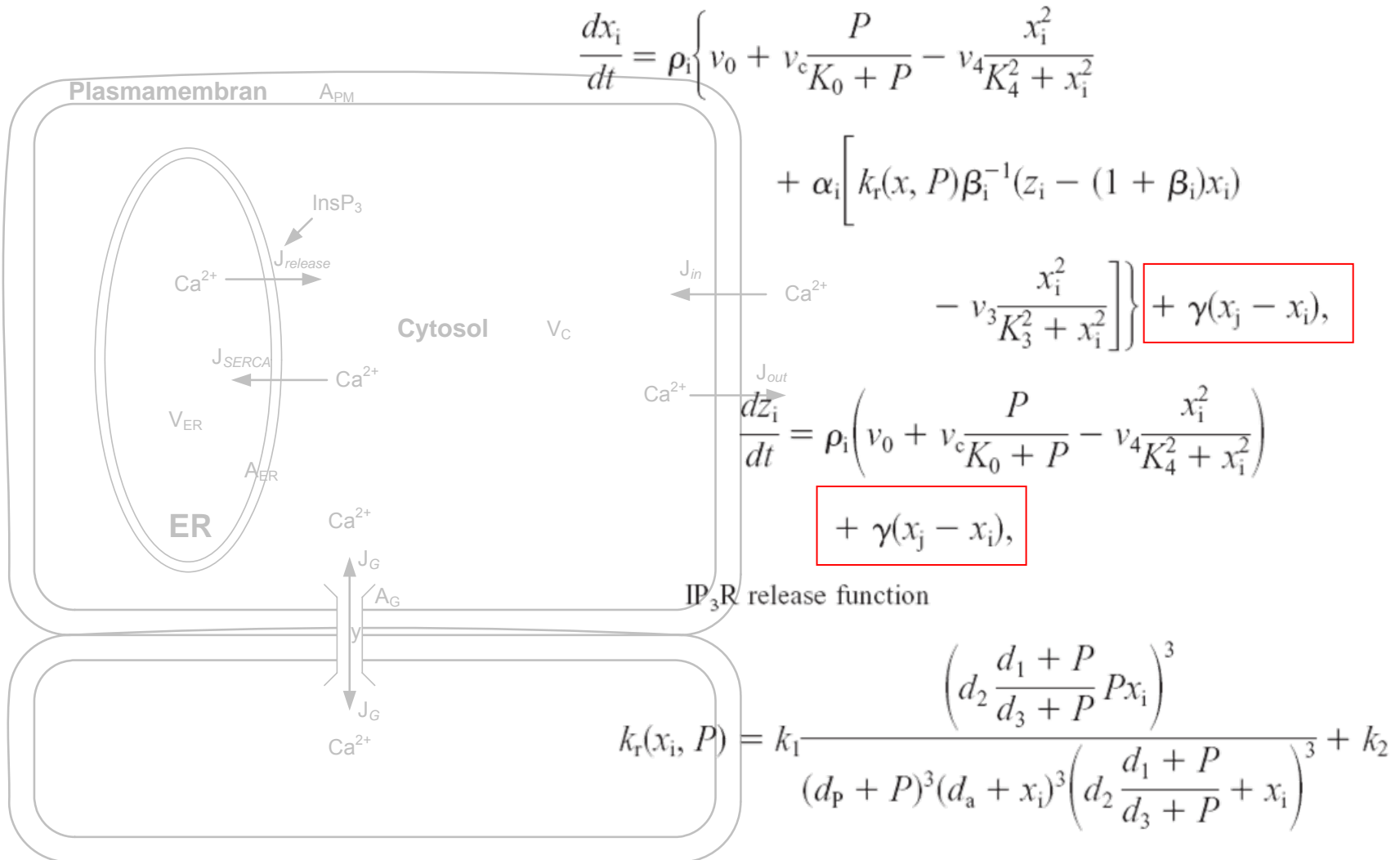
$$J_{G,ij} = \Pi_{ij}(x_j - x_i)$$

$$\gamma_{ij} = \frac{A_{G,ij}\Pi_{ij}}{C_{C,i}}$$

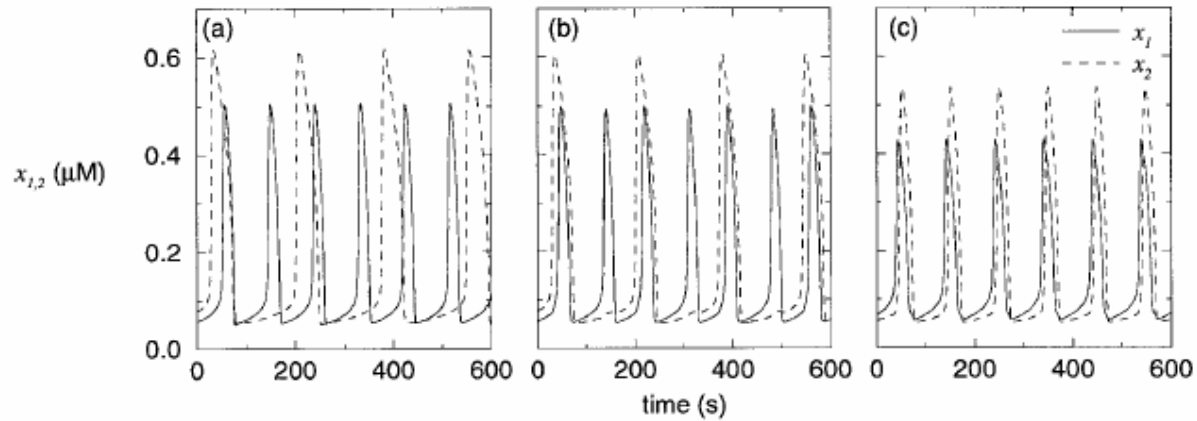
Das Gesamt-Modell



Das Gesamt-Modell



Gekoppelte Zellen, Synchronität



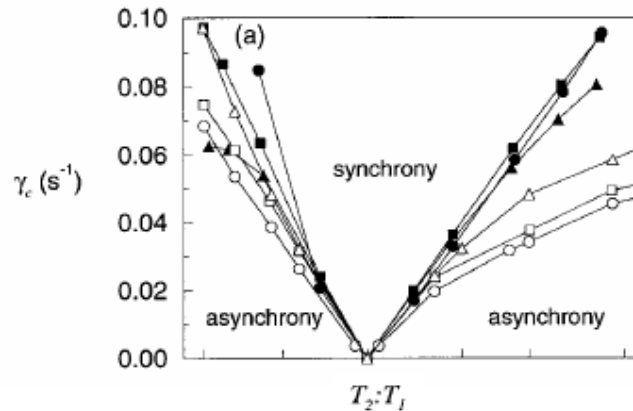
a) unlocked $\gamma = 0,001\text{s}^{-1}$

b) harmonic locked $\gamma = 0,01\text{s}^{-1}$

c) „synchrony“ $\gamma = 0,07\text{s}^{-1}$



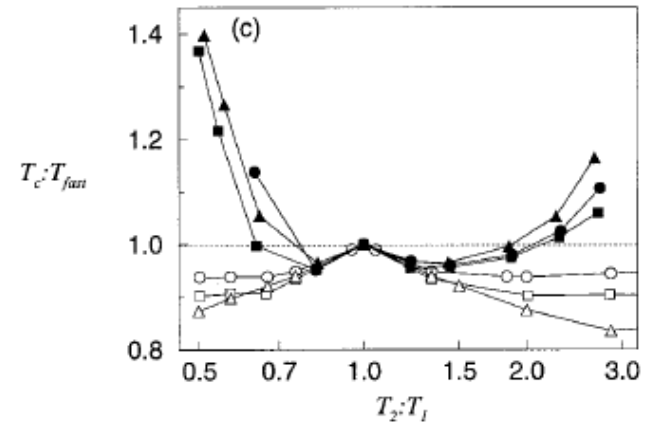
Strukturelle Parameter, Synchronität



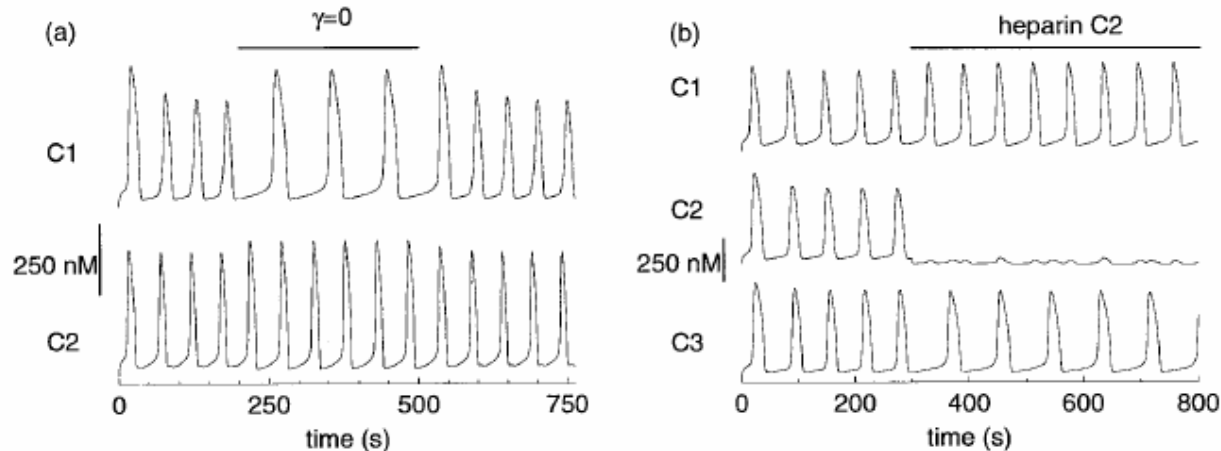
$$\beta = \frac{C_{ER}}{C_C}$$

$$\rho = \frac{A_{PM}}{C_C}$$

- Bestimmung der Kopplungskoeffizienten
- Zelle mit höchster Frequenz bestimmt die Gesamtfrequenz



Unterbrechung der Gap-Junction



- Unterbrechung der Gap-Junctions:
Gap-Junctions notwendig zur Synchronisierung
- Ausschalten der IP_3R in mittlerer Zelle von Triplet:
Synchronisierung erfolgt über direkt benachbarte Zellen

$$J_{\text{rel}} = [k_1(m_{\infty}(P, x)w)^3 + k_2](y - x)$$

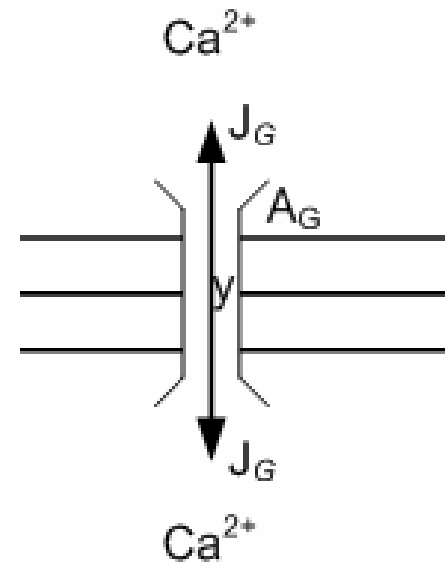
↙ = 0

$$J_{\text{in}} = v_0 + v_c \frac{P}{K_0 + P}$$

↙ = 0

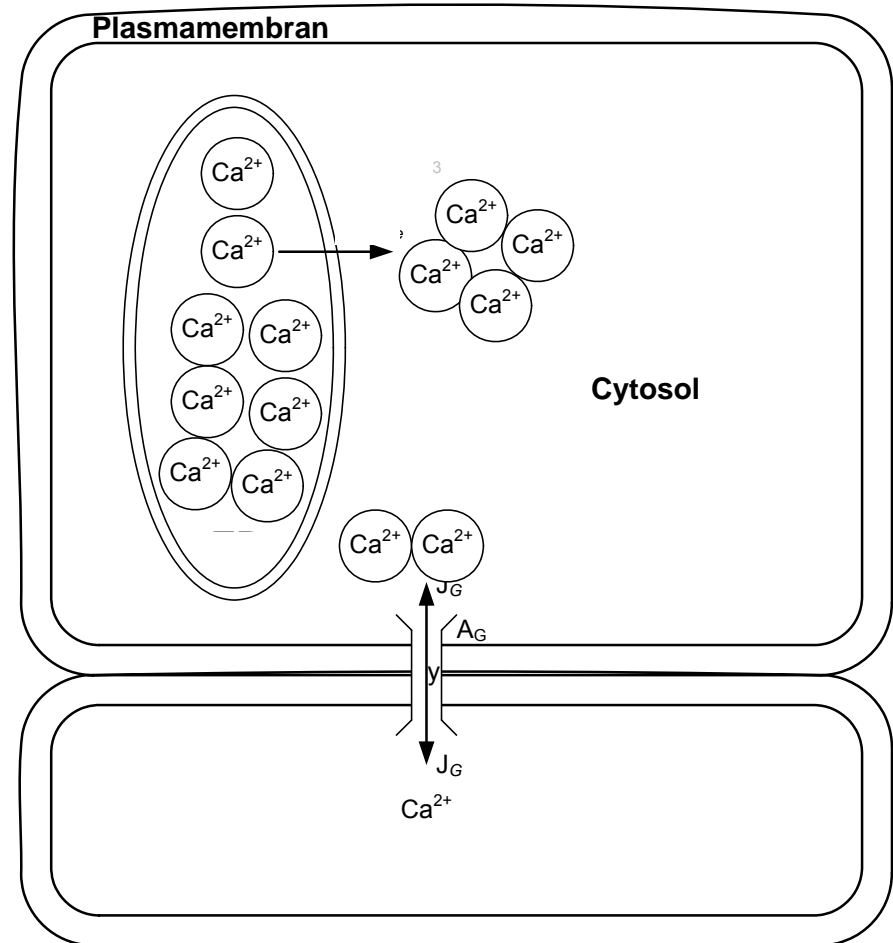
Sensibilisierung und Kopplungskoeffizient

- Sensibilisierung der IP_3 -Rezeptoren in allen Zellen
- Stärke der Kopplung durch Gap-Junctions
- Kritischer Bereich γ_{C1} bis γ_{C2}
- Wenn γ_C nicht zu groß ist, gibt die schnellste Zelle die Geschwindigkeit vor



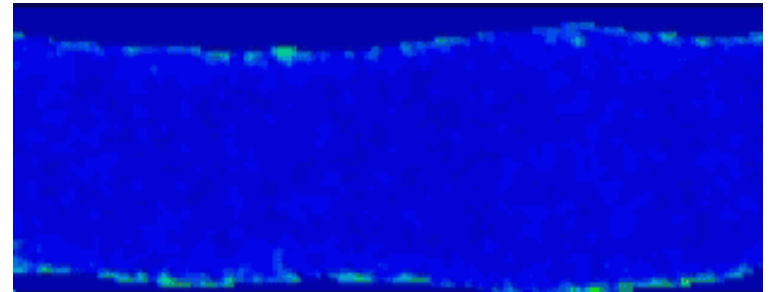
Bestimmung des Kopplungskoeffizienten

- Der gefundene Kopplungskoeffizientenbereich ist an der Obergrenze gefundener Literaturwerte (oder darüber)
- Beachtung der räumlichen Verteilung von Ca^{2+} in der Zelle (Austritt aus den Gap Junctions)
- Kalziumeintritt betrifft nur die Kalzium-Speicher in der Nähe der Gap-Junctions → Mögliche Verstärkung

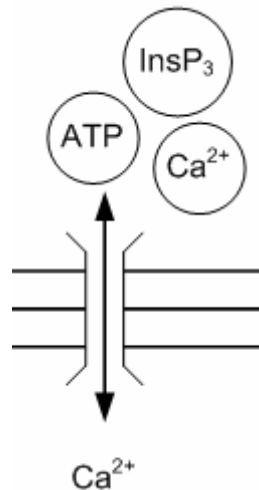


Weitere Fragestellungen

- Untersuchungen im größeren Rahmen (viel mehr Zellen)
- Synchronisation in anderen Zelltypen



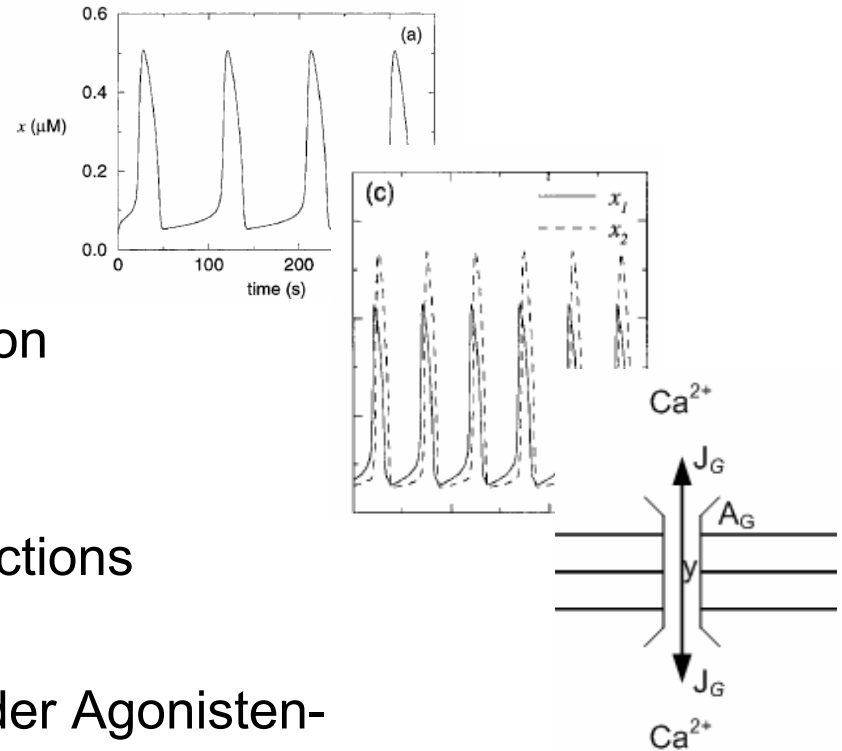
Quelle: Dr. B. Zimmermann, Prof. B. Walz, Universität Potsdam



- Einbeziehung von InsP_3 -Diffusion über Gap-Junctions
- Einbeziehung weiterer möglicher Signale wie z.B. ATP

Zusammenfassung

- Modellierung von Kalziumoszillationen in Hepatozyten
- Modellierung von Synchronisation zwischen Zellen
- Synchronisation durch Gap-Junctions
- Bestimmung von Grenzwerten der Agonistenkonzentration
- Bestimmung von Grenzwerten der Kopplungsstärke



Fragen ?