

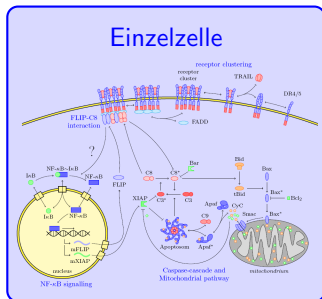
# Modellierung und Analyse einer heterogenen Population von NCI-H460 Zellen:

Wie uns unsere Mailbox helfen kann  
Zellpopulationen besser zu verstehen.

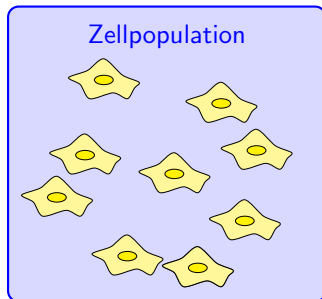
Jan Hasenauer, Frank Allgöwer

Institut für Systemtheorie und Regelungstechnik  
Universität Stuttgart

03. März 2010



Variabilität

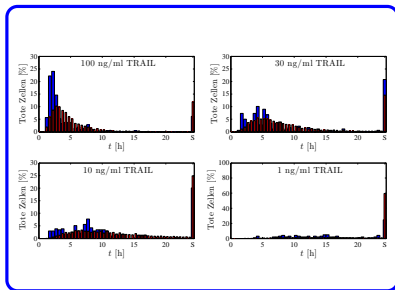
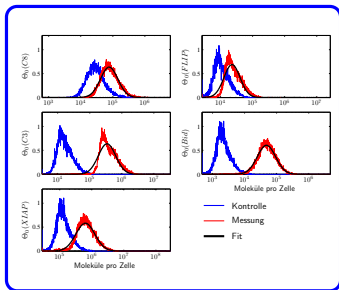


## Ursachen von Heterogenität

- Stochastizität biochemischer Reaktionen
- Ungleichverteilung des Zellmaterials bei der Zellteilung
- Genetische und epigenetische Unterschiede



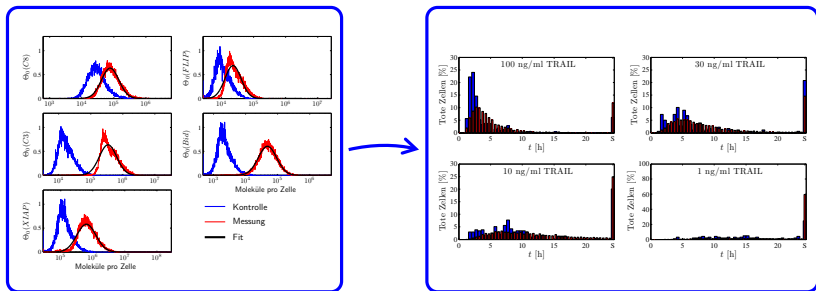
# Modell für eine Population von NCI-H460 Zellen



Modellierung → *große Fortschritte erzielt*

- Zellpopulation ist Ensemble von Einzelzellen
- Einzelzellen können sich unterscheiden

# Modell für eine Population von NCI-H460 Zellen



Modellierung → *große Fortschritte erzielt*

- Zellpopulation ist Ensemble von Einzelzellen
- Einzelzellen können sich unterscheiden

Analyse → *dieser Vortrag*

- Was sagt das Modell vorher?
- Was können wir mittels des Modells über das System lernen?

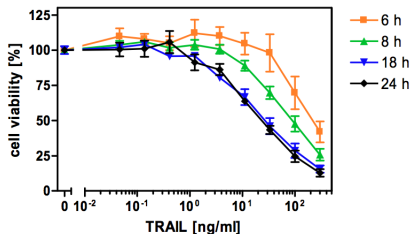


- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



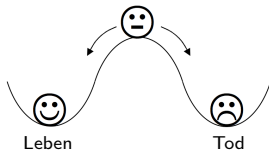
- 1 Einführung
- 2 **Eigenschaften überlebender Zellen**
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick

# Heterogenität in einer Population von NCI-H460 Zellen



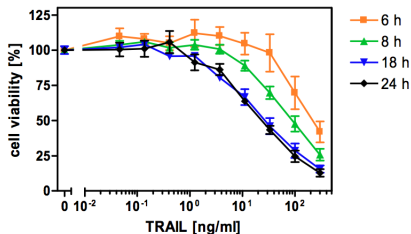
## Situation

- Stimulus mit 100 ng/ml TRAIL
- Induktion von Apoptose



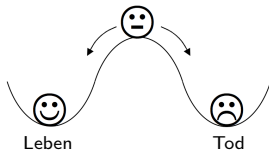
→ einige Zellen überleben!

# Heterogenität in einer Population von NCI-H460 Zellen



## Situation

- Stimulus mit 100 ng/ml TRAIL
- Induktion von Apoptose



→ einige Zellen überleben!

Wie unterscheiden sich die überlebenden Zellen vom Rest?



## Frage:

- Wie unterscheiden sich überlebende und sterbende Zellen?

## Beobachtungen:

- Modell reproduziert Daten relativ gut. → Modell scheint gut!

## Annahme:

- Die im Modell berücksichtigten Ursachen für Heterogenität sind die selben wie im realen System. → Modell ist gut!

## Modell-basierte Untersuchung von

- Unterschieden zwischen überlebenden und sterbenden Zellen
- Subpopulationen auf gemeinsame Eigenschaften



## Frage:

- Wie unterscheiden sich überlebende und sterbende Zellen?

## Beobachtungen:

- Modell reproduziert Daten relativ gut. → Modell scheint gut!

## Annahme:

- Die im Modell berücksichtigten Ursachen für Heterogenität sind die selben wie im realen System. → Modell ist gut!

## Modell-basierte Untersuchung von

- Unterschieden zwischen überlebenden und sterbenden Zellen
- Subpopulationen auf gemeinsame Eigenschaften

Wie macht man das? → neue Methoden!



- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



## Ziel:

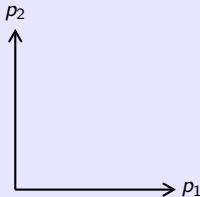
Erste grobe Identifikation von wichtigen Faktoren im System.

## Problem:

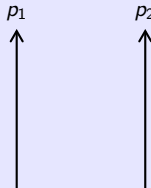
- Parameterraum ist hochdimensional
- ⇒ Visuelle Analyse mittels Karthesischer Koordinaten nicht möglich!

## Konzept Paralleler Koordinaten

Karthesische Koordinaten



Parallele Koordinaten





## Ziel:

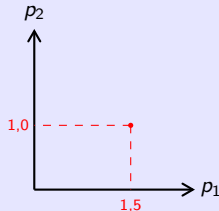
Erste grobe Identifikation von wichtigen Faktoren im System.

## Problem:

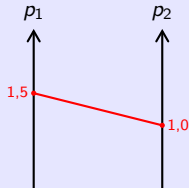
- Parameterraum ist hochdimensional
- ⇒ Visuelle Analyse mittels Karthesischer Koordinaten nicht möglich!

## Konzept Paralleler Koordinaten

Karthesische Koordinaten



Parallele Koordinaten





## Ziel:

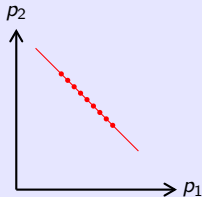
Erste grobe Identifikation von wichtigen Faktoren im System.

## Problem:

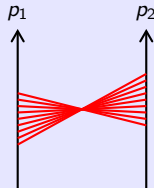
- Parameterraum ist hochdimensional
- ⇒ Visuelle Analyse mittels Karthesischer Koordinaten nicht möglich!

## Konzept Paralleler Koordinaten

Karthesische Koordinaten



Parallele Koordinaten





## Ziel:

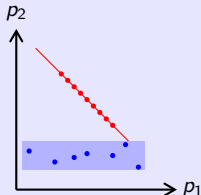
Erste grobe Identifikation von wichtigen Faktoren im System.

## Problem:

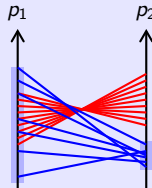
- Parameterraum ist hochdimensional
- ⇒ Visuelle Analyse mittels Karthesischer Koordinaten nicht möglich!

## Konzept Paralleler Koordinaten

Karthesische Koordinaten



Parallele Koordinaten





## Ziel:

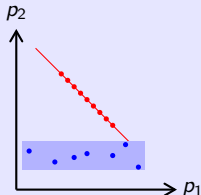
Erste grobe Identifikation von wichtigen Faktoren im System.

## Problem:

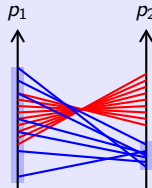
- Parameterraum ist hochdimensional
- ⇒ Visuelle Analyse mittels Karthesischer Koordinaten nicht möglich!

## Konzept Paralleler Koordinaten

Karthesische Koordinaten



Parallele Koordinaten

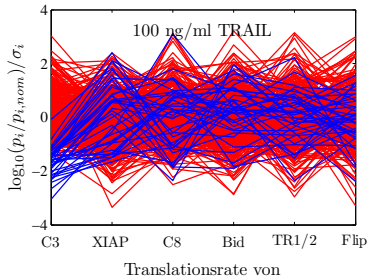
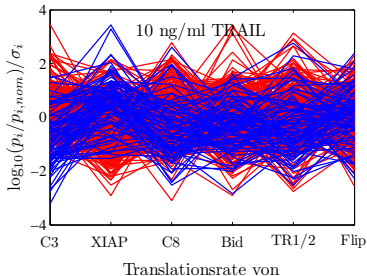


→ Wie hilft uns dieser Ansatz bei unserem Problem?



## Populationsmodell:

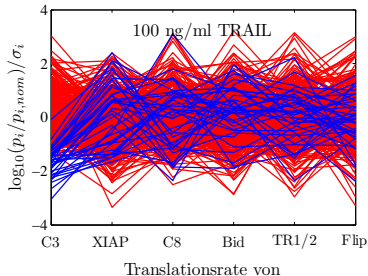
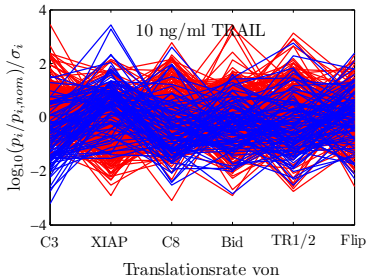
- Einzelne Zellen unterscheiden sich in Translationsraten und Anfangskonzentrationen
- "Tod" definiert über Schwellwert in C3\* Aktivität  
⇒ binäre Klassifikation: tot (—) oder lebendig (—)





## Populationsmodell:

- Einzelne Zellen unterscheiden sich in Translationsraten und Anfangskonzentrationen
- "Tod" definiert über Schwellwert in C3\* Aktivität  
⇒ binäre Klassifikation: tot (—) oder lebendig (—)

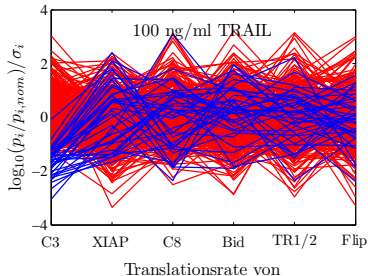
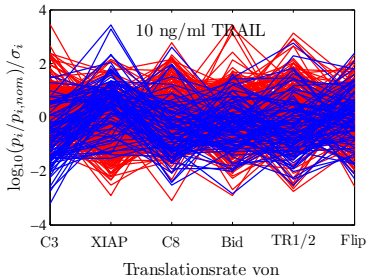


Mengen von C3 und XIAP sind wichtige Marker! → wie erwartet!



## Populationsmodell:

- Einzelne Zellen unterscheiden sich in Translationsraten und Anfangskonzentrationen
- "Tod" definiert über Schwellwert in C3\* Aktivität  
⇒ binäre Klassifikation: tot (—) oder lebendig (—)



Mengen von C3 und XIAP sind wichtige Marker! → wie erwartet!

Spielen die anderen Parameter keine Rolle? → quantitative Methoden



- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



- 1 Einführung
- 2 **Eigenschaften überlebender Zellen**
  - Visuelle Analyse
  - **Quantitative numerische Analyse**
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



## Ziel:

Quantitatives Maß für die Relevanz einzelner Parameter  $p_i$  auf die Schicksalsentscheidung – "Tod/Leben" – einer Zelle der Population.

## Abstraktion/Ansatz:

Tod = 0    Leben = 1  
⇒ binäre Klassifikation anhand von Parameterwerten  $p_i$



## Ziel:

Quantitatives Maß für die Relevanz einzelner Parameter  $p_i$  auf die Schicksalsentscheidung – "Tod/Leben" – einer Zelle der Population.

## Abstraktion/Ansatz:

Tod = 0    Leben = 1

⇒ binäre Klassifikation anhand von Parameterwerten  $p_i$   
→ gleiche Fragestellung wie beim Spam Filtering



## Ziel:

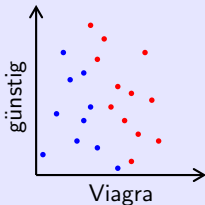
Quantitatives Maß für die Relevanz einzelner Parameter  $p_i$  auf die Schicksalsentscheidung – "Tod/Leben" – einer Zelle der Population.

## Abstraktion/Ansatz:

Tod = 0    Leben = 1

⇒ binäre Klassifikation anhand von Parameterwerten  $p_i$   
→ gleiche Fragestellung wie beim Spam Filtering

## Beispiel:



- Spam
- kein Spam



## Ziel:

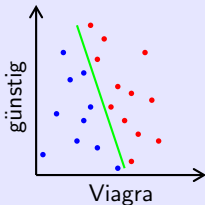
Quantitatives Maß für die Relevanz einzelner Parameter  $p_i$  auf die Schicksalsentscheidung – "Tod/Leben" – einer Zelle der Population.

## Abstraktion/Ansatz:

Tod = 0    Leben = 1

⇒ binäre Klassifikation anhand von Parameterwerten  $p_i$   
→ gleiche Fragestellung wie beim Spam Filtering

## Beispiel:



- Spam
- kein Spam
- separierende Hyperebene



## Ziel:

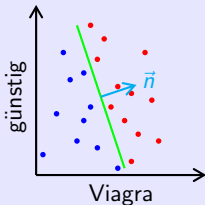
Quantitatives Maß für die Relevanz einzelner Parameter  $p_i$  auf die Schicksalsentscheidung – "Tod/Leben" – einer Zelle der Population.

## Abstraktion/Ansatz:

Tod = 0    Leben = 1

⇒ binäre Klassifikation anhand von Parameterwerten  $p_i$   
→ gleiche Fragestellung wie beim Spam Filtering

## Beispiel:



- Spam
- kein Spam
- separierende Hyperebene
- ↗ Normalenvektor

⇒ Relevanz von  $p_i$ :  $R_i = \frac{|n_i|}{\|\vec{n}\|}$



## Ziel:

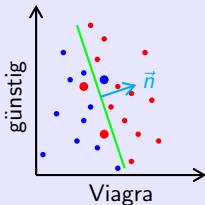
Quantitatives Maß für die Relevanz einzelner Parameter  $p_i$  auf die Schicksalsentscheidung – "Tod/Leben" – einer Zelle der Population.

## Abstraktion/Ansatz:

Tod = 0    Leben = 1

⇒ binäre Klassifikation anhand von Parameterwerten  $p_i$   
→ gleiche Fragestellung wie beim Spam Filtering

## Beispiel:

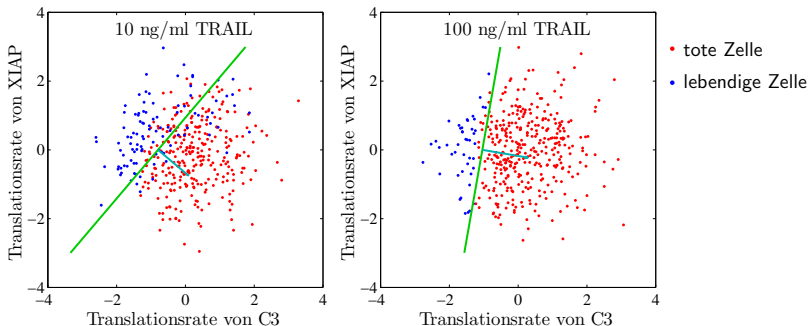


- Spam
- kein Spam
- ↘ separierende Hyperebene
- ↗ Normalenvektor

⇒ Relevanz von  $p_i$ :  $R_i = \frac{|n_i|}{\|\vec{n}\|}$

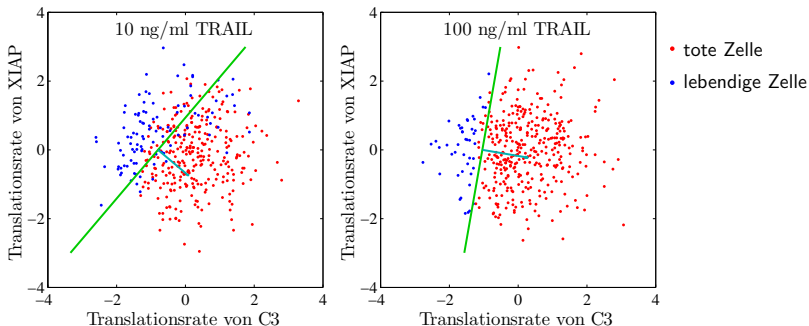
Lineare Klassifikation ⇒ Beitrag einzelner Parameter zur Heterogenität

# C3 und XIAP als Marker



- TRAIL $\uparrow$   $\Rightarrow$  gute Separation
- TRAIL $\downarrow$   $\Rightarrow$  schlechte Separation

# C3 und XIAP als Marker

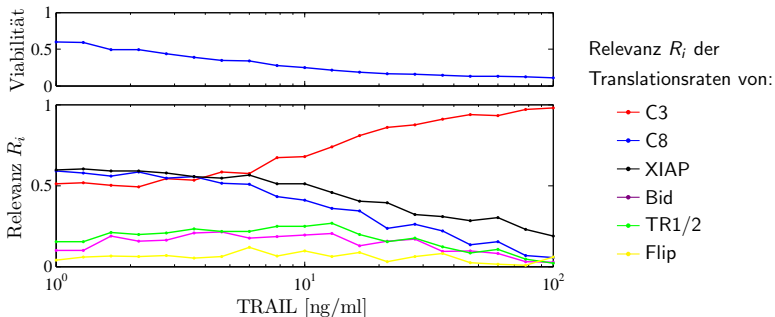


- TRAIL $\uparrow$   $\Rightarrow$  gute Separation
- TRAIL $\downarrow$   $\Rightarrow$  schlechte Separation

$\Rightarrow$  C3 und XIAP gute Marker für hohe TRAIL Konzentration

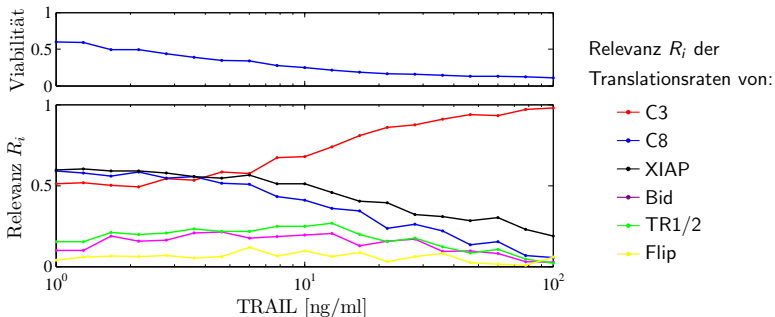
$\rightarrow$  Gute Marker für niedrige TRAIL Konzentrationen?

# Marker für niedrige TRAIL Konzentration



- $R_i$  abhängig von TRAIL Konzentration
- Lineare Separation ausreichend  $\rightarrow$   $> 75\%$  korrekt klassifiziert

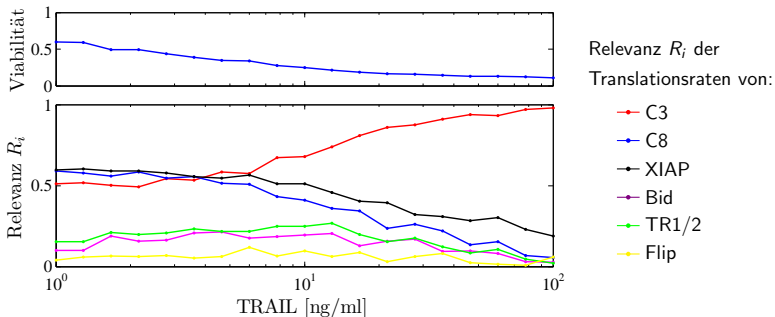
# Marker für niedrige TRAIL Konzentration



- $R_i$  abhängig von TRAIL Konzentration
- Lineare Separation ausreichend  $\rightarrow$   $> 75\%$  korrekt klassifiziert

$\Rightarrow$  zwei Marker reichen nicht aus!

# Marker für niedrige TRAIL Konzentration



- $R_i$  abhängig von TRAIL Konzentration
- Lineare Separation ausreichend  $\rightarrow$   $> 75\%$  korrekt klassifiziert

$\Rightarrow$  zwei Marker reichen nicht aus!

Hohe TRAIL Konzentration kann Heterogenität *teilweise kompensieren!*

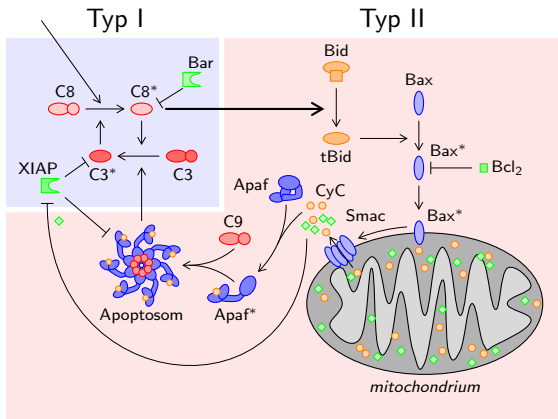


- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick

# Unterscheidung von Typ I und Typ II Zellen



Typ I:

Zelle stirbt ohne  
Mitochondrialen  
Signalweg

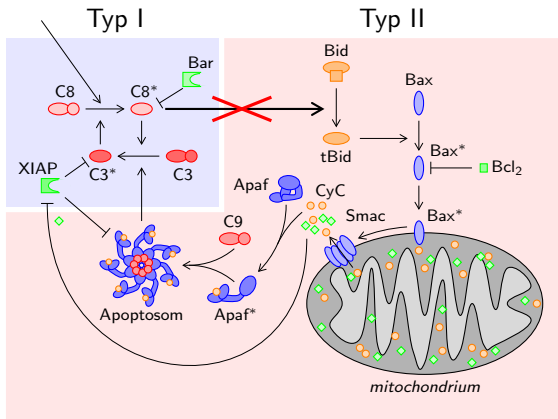
Typ II:

Mitochondrialer  
Signalweg wird  
benötigt für  
Apoptose

Frage:

Was ist der Unterschied zwischen Typ I und Typ II Zellen?

# Unterscheidung von Typ I und Typ II Zellen



Typ I:

Zelle stirbt ohne  
Mitochondrialen  
Signalweg

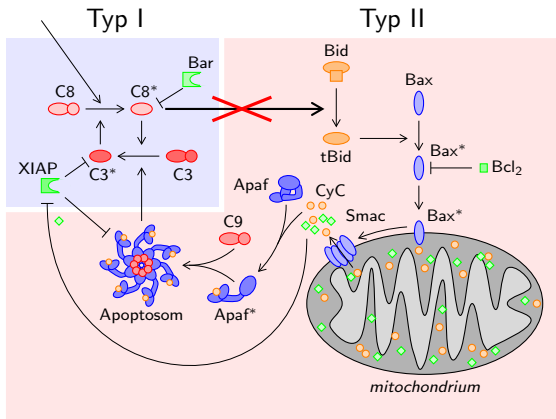
Typ II:

Mitochondrialer  
Signalweg wird  
benötigt für  
Apoptose

Frage:

Was ist der Unterschied zwischen Typ I und Typ II Zellen?

# Unterscheidung von Typ I und Typ II Zellen



Typ I:

Zelle stirbt ohne  
Mitochondrialen  
Signalweg

Typ II:

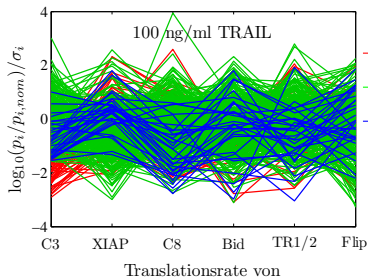
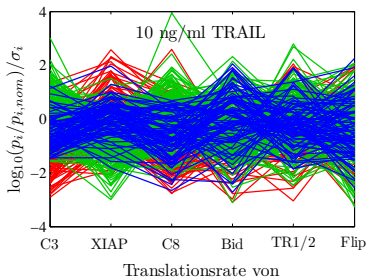
Mitochondrialer  
Signalweg wird  
benötigt für  
Apoptose

Frage:

Was ist der Unterschied zwischen Typ I und Typ II Zellen?

Können zuvor entwickelte Methoden verwendet werden?

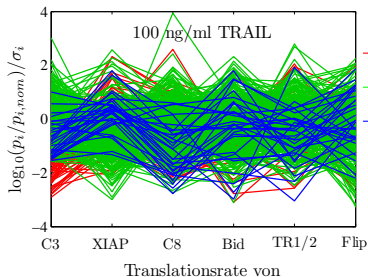
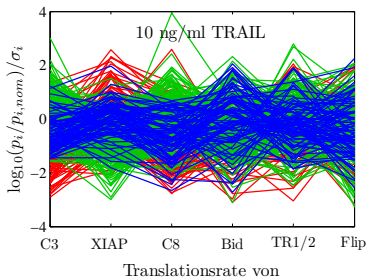
# Unterscheidung von Typ I/II: Visuelle Analyse



- lebendig
- Typ I
- Typ II

⇒ C3, C8 und XIAP scheinen eine wichtige Rolle zu spielen!

# Unterscheidung von Typ I/II: Visuelle Analyse

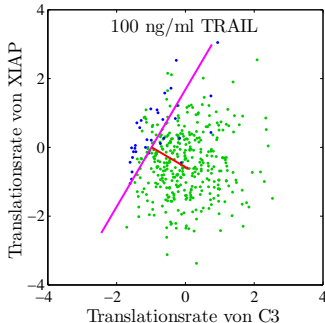
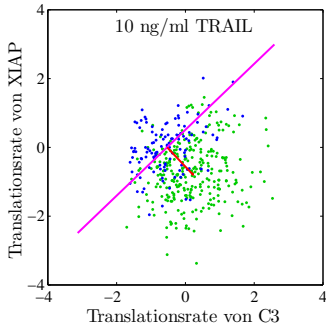


- lebendig
- Typ I
- Typ II

⇒ C3, C8 und XIAP scheinen eine wichtige Rolle zu spielen!

Gibt es für Typ I/II einen einfachen Marker?

# Unterscheidung von Typ I/II: 2 Marker

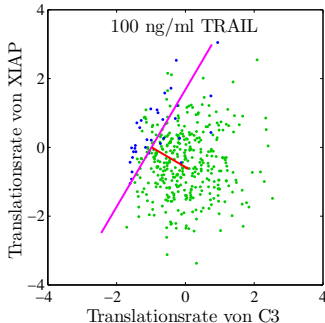
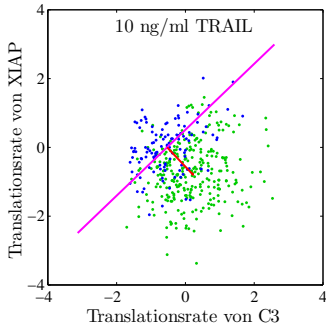


- Typ I
- Typ II

## Typ I/II Zellen nicht separierbar in:

- C3-XIAP-Ebene
- C8-XIAP-Ebene (Abbildungen nicht gezeigt)
- C3-C8-Ebene (Abbildungen nicht gezeigt)

# Unterscheidung von Typ I/II: 2 Marker



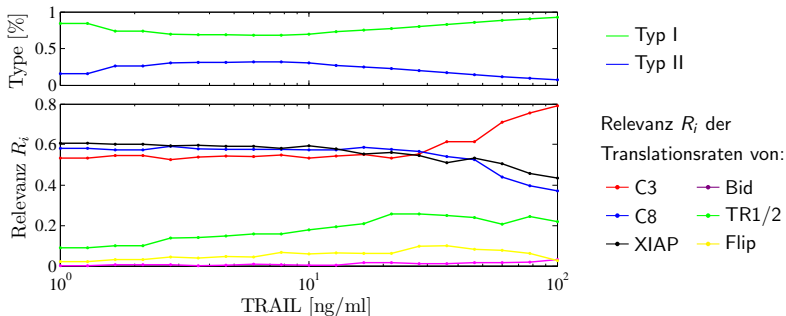
- Typ I
- Typ II

Typ I/II Zellen nicht separierbar in:

- C3-XIAP-Ebene
- C8-XIAP-Ebene (Abbildungen nicht gezeigt)
- C3-C8-Ebene (Abbildungen nicht gezeigt)

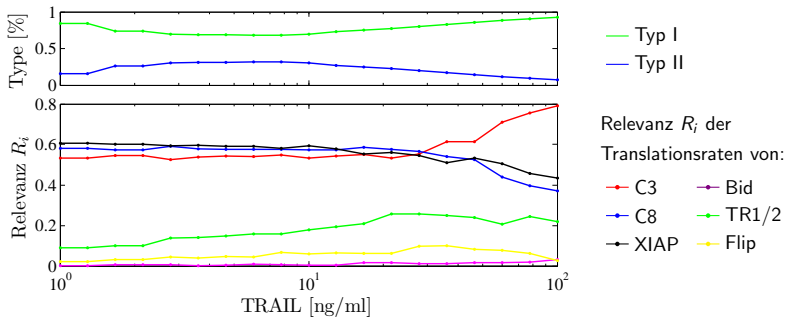
⇒ Separation im Hochdimensionalen notwendig!

# Unterscheidung von Typ I/II: 3 Marker



- Lineare Separation ausreichend  $\rightarrow$   $> 75\%$  korrekt klassifiziert
- Typ I/II Unterscheidung an Hand von C3, C8 und XIAP möglich
- Bid und Flip spielen kaum eine Rolle

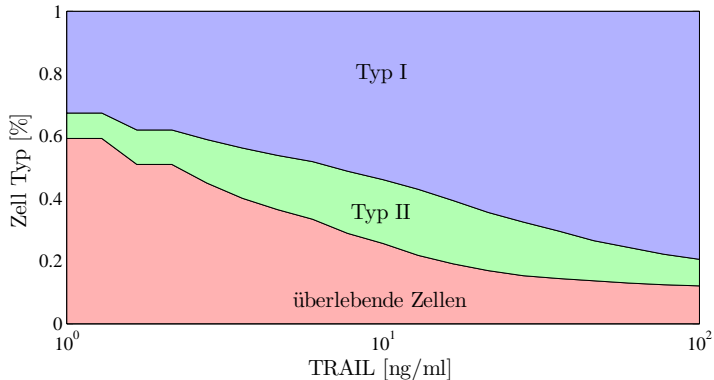
# Unterscheidung von Typ I/II: 3 Marker



- Lineare Separation ausreichend  $\rightarrow$   $> 75\%$  korrekt klassifiziert
- Typ I/II Unterscheidung an Hand von C3, C8 und XIAP möglich
- Bid und Flip spielen kaum eine Rolle

Markersuche schwierig  $\rightarrow$  überprüfbare Vorhersagen?

# Anteil von Typ I und Typ II



überprüfbare Vorhersage  $\Rightarrow$  Bcl-2 überexprimierende Zellen  
(entwickelt von Gosia)

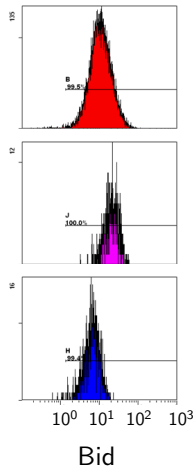
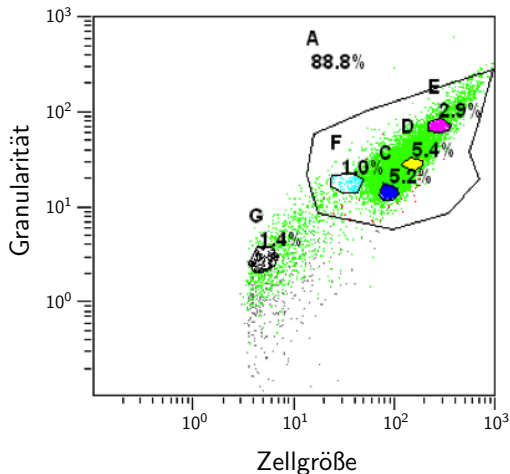


- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick

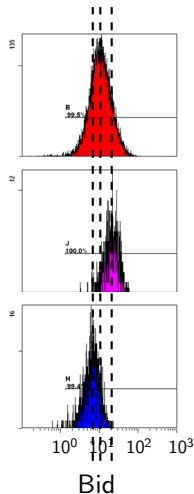
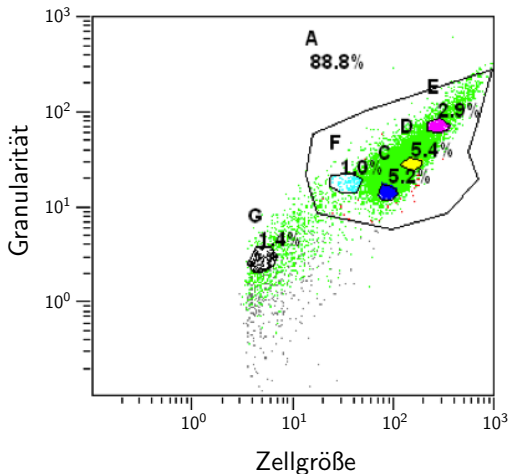


- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 **Messdaten und Modellierung**
- 5 Zusammenfassung und Ausblick

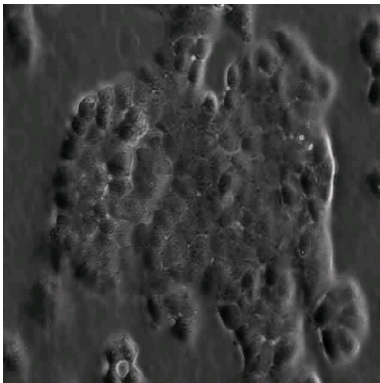
# Einfluss von Zellgröße auf FACS Messung



# Einfluss von Zellgröße auf FACS Messung



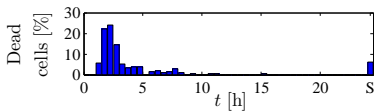
Messung korreliert mit Zellgröße → reduzierte Heterogenität!

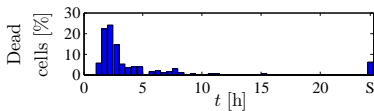
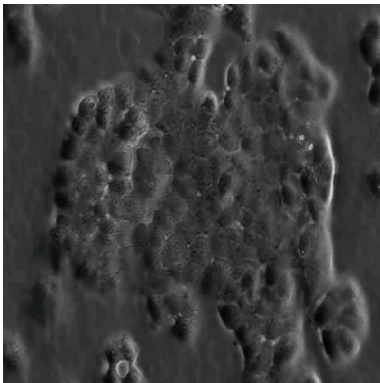


## Probleme:

- resistente Zellen proliferieren
  - Änderung des Zellenvolumens während des Zellzyklus
- ⇒ Daten schwierig auszuwerten

⇒ Erweiterung der Modells notwendig!





## Probleme:

- resistente Zellen proliferieren
  - Änderung des Zellenvolumens während des Zellzyklus
- ⇒ Daten schwierig auszuwerten

⇒ Erweiterung der Modells notwendig!

## Möglichkeiten:

1. Zellteilung modelliert mittels konstanter Zellteilungsrate
2. Einfaches Zellzyklusmodell

⇒ Auswahl auf Basis von Experimenten!



- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



- 1 Einführung
- 2 Eigenschaften überlebender Zellen
  - Visuelle Analyse
  - Quantitative numerische Analyse
- 3 Unterscheidung Typ I / Typ II
- 4 Messdaten und Modellierung
- 5 Zusammenfassung und Ausblick



## Zusammenfassung

- Zwei Methoden zur Analyse von Zellpopulationen → Spam-Filtering
- Zelltod
  - TRAIL $\uparrow$  → Translationsraten von C3 und XIAP
  - TRAIL $\downarrow$  → Translationsraten von C3, C8 und XIAP
- Typ I/II → C3, C8 und XIAP Translationsraten
- Es wurde nicht gezeigt:
  - Methode zu Sensitivitätsanalyse
  - Drei neue Methoden zur Parameterschätzung für Zellpopulation
  - Weiterentwicklung der Simulationsumgebung



## Zusammenfassung

- Zwei Methoden zur Analyse von Zellpopulationen → Spam-Filtering
- Zelltod
  - TRAIL↑ → Translationsraten von C3 und XIAP
  - TRAIL↓ → Translationsraten von C3, C8 und XIAP
- Typ I/II → C3, C8 und XIAP Translationsraten
- Es wurde nicht gezeigt:
  - Methode zu Sensitivitätsanalyse
  - Drei neue Methoden zur Parameterschätzung für Zellpopulation
  - Weiterentwicklung der Simulationsumgebung

## Ausblick

- "Parameterschätzung/-studie" für Populationsmodell
- Erweiterung des Populationsmodells
  - Receptor-Clustering
  - Zellteilung
- ...



## Zusammenfassung

- Zwei Methoden zur Analyse von Zellpopulationen → Spam-Filtering
- Zelltod
  - TRAIL↑ → Translationsraten von C3 und XIAP
  - TRAIL↓ → Translationsraten von C3, C8 und XIAP
- Typ I/II → C3, C8 und XIAP Translationsraten
- Es wurde nicht gezeigt:
  - Methode zu Sensitivitätsanalyse
  - Drei neue Methoden zur Parameterschätzung für Zellpopulation
  - Weiterentwicklung der Simulationsumgebung

## Ausblick

- "Parameterschätzung/-studie" für Populationsmodell
- Erweiterung des Populationsmodells
  - Receptor-Clustering
  - Zellteilung
- ... **Langweilig wird uns sicher nicht! ;-)**

# Danke an:



Institut für Systemtheorie  
und Regelungstechnik



Institut für Zellbiologie  
und Immunologie



Institut für  
Automatisierungstechnik



Institut für  
Bioverfahrenstechnik



Institut für  
Wasserbau

