

Technische Universität Berlin
Institut für Mathematik

Die mathematische Modellierung eines osmotischen Schocks

Seminar Differentialgleichungen im Wintersemester 2008/09
bei Dr. Etienne Emmrich

vorgelegt von
Tanja Kramm
25. Januar 2009

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	2
2	Der osmotische Schock	3
3	Die mathematische Modellierung	6
3.1	Das biophysikalische Modell	6
3.2	Das Kontrollsystem	7
3.3	Das abgeschlossene System	9
4	Existenz und Eindeutigkeit	10
5	Die Parameterschätzung	16
6	Die Ergebnisse im Vergleich	18
6.1	Die Simulation eines osmotischen Schocks	18
6.2	Serien von osmotischen Schocks	21
6.3	Weitere Tests	22
6.3.1	Offener Glycerolkanal	22
6.3.2	Keine Glycerolproduktion	23
7	Modifikationen des geschlossenen Systems	25
	Literatur	27

1 Einleitung

In der vorliegenden Arbeit wird der Ablauf eines osmotischen Schocks mit Hilfe von Differentialgleichungen beschrieben. Als Grundlage diente das Modell von *Gennemark et al. (2006)*, die mathematischen Zusammenhänge einer Hefezelle detailliert beschrieben haben. Das Ziel dieser Arbeit ist, unter Verwendung dieser Gleichungen ein abgeschlossenes System zu erhalten, um dieses anschließend numerisch zu lösen und mathematisch genauer zu untersuchen.

Im ersten Kapitel konzentrieren wir uns auf die Beschreibung der biochemischen Vorgänge eines osmotischen Schocks. In den beiden darauffolgenden Kapiteln wird dieser Prozess mit Hilfe von mathematischen Gleichungen formuliert und das geschlossene System auf die Existenz und Eindeutigkeit einer Lösung untersucht. Zum Schluss werden die Ergebnisse vorgestellt und mit der Arbeit von *Gennemark et al. (2006)* verglichen.

2 Der osmotische Schock

Dieses Kapitel soll eine gezielte Zusammenfassung der benötigten biochemischen Grundlagen zur Beschreibung eines osmotischen Schocks bei der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* beinhalten.

Wenn Hefezellen in eine Umgebung mit einer erhöhten Konzentration von Salz oder Zucker gebracht werden, verlieren sie passiv Wasser („osmotischer Schock“). Um dem entgegen zu wirken, wird im Zellinneren die osmotisch aktive Substanz Glycerol akkumuliert. Die Glycerolanreicherung wird zum einen durch die erhöhte Produktion von Glycerol, die über eine Reihe von Signalwegen, unter anderem den sogenannten *High Osmolarity Glycerol* (HOG) Signalweg, angeregt wird, und zum anderen durch das Schließen des Glycerolskanals Fps1 in der Zellmembran erreicht. Wenn die Zelle genügend Glycerol angereichert hat, strömt Wasser wieder ein, so dass sich ihr Wasserhaushalt ausgleicht. Die erhöhte Glycerolbildung stellt sich ein und der Glycerolkanal Fps1 öffnet sich wieder. Danach setzt sich der unterbrochene Wachstumsprozess fort. Die Abbildung 1 veranschaulicht diese vereinfachte Darstellung des osmotischen Schocks.

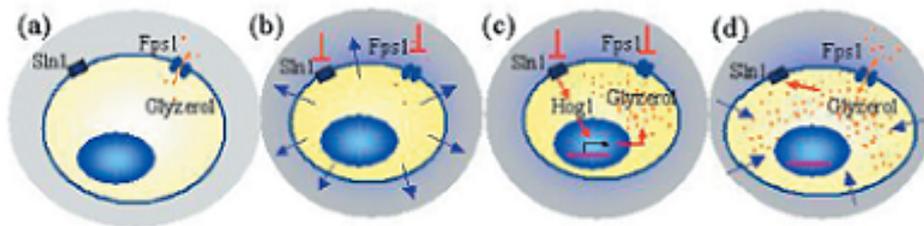


Abbildung 1: Prozesse bei der Osmoadaption von Hefezellen in zeitlicher Abfolge: (a) Ohne Stress wird wenig Glycerol produziert und zum Teil durch den Glycerolkanal Fps1 transportiert. (b) Bei Salzzugabe verliert die Zelle Wasser und schrumpft. Der Rezeptor Sln1 wird angeregt und Fps1 schließt sofort. (c) Regulationsprozesse einschliesslich des HOG-Signalweges werden aktiviert und Glycerol wird verstärkt produziert und akkumuliert. (d) Der Turgordruck normalisiert sich und Wasser strömt wieder ein; Fps1 öffnet sich. Urheber: Max-Planck-Institut für molekulare Genetik/Klipp

Um derartige Prozesse zu steuern, müssen einige Signalwege koordiniert werden, die in Abbildung 2 schematisch dargestellt werden. Ohne Außeneinwirkungen ist der Rezeptor Sln1 aktiviert und über Ypd1 auf Ssk1 Phosphatreste. Dabei wird Sln1 autophosphoryliert, das heißt, dass es den Phosphatrest eigenständig aufnimmt. Ein Rezeptor ist eine spezifische Bindungsstelle an der Zelloberfläche, das äußere und innere Reize in eine für die Zelle verständliche Form bringt. Da die Zelle aufgrund der Zugabe von Salz Wasser verliert und schrumpft, das heißt, dass der äußere osmotische Druck auf die Zelle wächst, nimmt die Größe der Zellmembran ab und damit auch der Turgordruck. Als Turgordruck wird der Druck des Zellsaftes auf die Zellwand bezeichnet. Dieser Druck-

verlust bewirkt zum einen eine Inaktivierung des Rezeptors Sln1 und zum anderen die Schließung des Glycerolkkanals. Als erstes wird das von Sln1 erhaltene Signal durch eine Signalkaskade zu Ssk1 übertragen. Das bedeutet, dass die Signale in eine für innere Enzyme verständliche Form umgewandelt werden und in das Zellinnere weitergeleitet werden. Dadurch wird die Übertragung von Phosphatresten unterbrochen und Ssk1 wird somit dephosphoriliert. In diesem Zustand kann der Ssk1 seine Funktion als Suppressor, also als Sperre, von dem benachbarten Ssk2-Gen, welches für die Produktion von Glycerol über eine MAP-Kinase-Kaskade zuständig ist, nicht mehr erfüllen. Somit wird das Ssk2-Gen aktiviert und es findet eine mehrstufige Signaltransduktion bis zum Hog1 statt. Das aktive Hog1 sammelt sich im Zellkern an, wo es eine Genexpression bewirkt. Zur Proteinbiosynthese wird ein Gen von der DNA abgelesen und durch Synthese (Herstellung eines komplizierten zusammengesetzten Stoff durch Verbindung aus Elementen) von RNA aus der DNA und mRNA aus der RNA in ein mRNA Molekül übersetzt (transkribiert). Von der mRNA wird die Basensequenz in die Aminosäuresequenz des zu bildenen Proteins übersetzt (Translation). In unserem Fall bewirkt dies eine vermehrte Produktion von Glycerol.

Die daraus resultierende erhöhte Glycerolkonzentration bewirkt aufgrund des darauffolgenden Wassereinflusses eine Zunahme des Volumens und somit auch einen höheren internen osmotischen Druck. Dieses wiederum führt zum Anstieg des Turgordrucks, was die Aktivierung des Rezeptors Sln1 und Öffnung des Glycerolkkanals Fps1 zur Folge hat. Die Hefezelle kehrt zu ihrem Ursprungszustand zurück und setzt die unterbrochenen Wachstumsprozesse fort.

Zur Veranschaulichung ist der Regelkreis in zwei schematischen Darstellungen abgebildet. Die Abbildung 2 konzentriert sich auf die exakte Bezeichnung des HOG Signalweges und der Genexpression. Die Abbildung 3 verdeutlicht die zwei parallel ablaufenden verschiedenen Systeme. Das Biophysikalische System beschreibt die Zusammenhänge, die für die Veränderung des Volumens zuständig sind. Das Kontrollsystem hingegen befasst sich mit den Signalwegen, die eine erhöhte Glycerolbildung verursachen. Die Veränderung des Turgordrucks verbindet diese beiden Systeme.

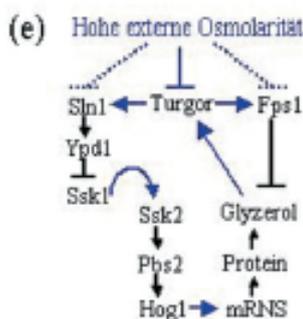


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Regelkreises, Urheber: Max-Planck-Institut für molekulare Genetik/Klipp

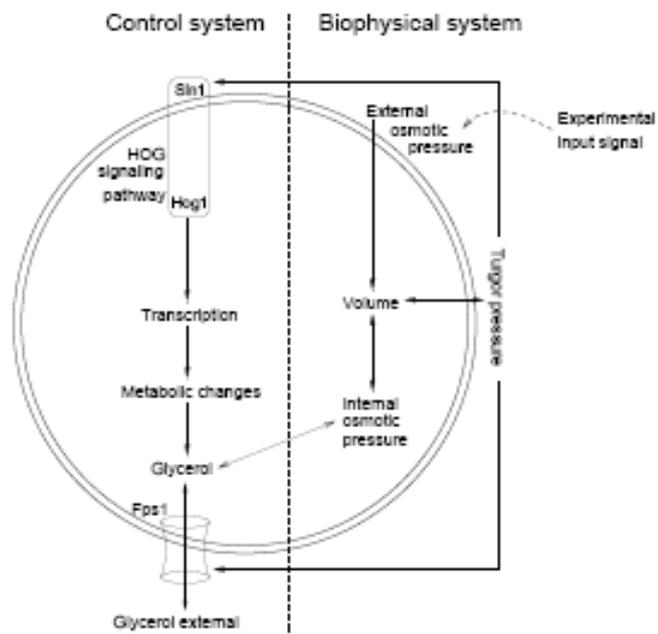


Abbildung 3: Übersicht des osmotischen Schocks bei einer Hefezelle, Urheber: Gennemark et al. (2006)

3 Die mathematische Modellierung

Das Ziel in diesem Kapitel ist es, den Ablauf des osmotischen Schocks mit Hilfe von Differentialgleichungen mathematisch zu beschreiben.

Klipp et al. (2005) entwickelten für diesen komplexen Prozess ein sehr ausführliches System, welches aus 35 gewöhnlichen Differentialgleichungen, 70 Parametern und 2 algebraischen Gleichungen bestand. Jedoch war es aufgrund der Unvollständigkeit des Systems nicht möglich, mit dem uns verfügbaren Informationsmaterial das Modell zu lösen. Deshalb haben wir uns in unserer Arbeit auf das vereinfachte mathematische Modell von *Gennemark et al. (2006)* konzentriert. Dieses Modell beinhaltet 4 gewöhnliche Differentialgleichungen, 3 algebraische Gleichungen und 10 Parameter.

Das vereinfachte Modell besteht aus zwei Hauptkomponenten (vgl. Abbildung 3). Das biophysikalische Modell beschreibt, wie die Zelle auf die Veränderung des externen Drucks reagiert. Das Kontrollmodell befasst sich mit dem Prozess in der Zelle, welcher dem biophysikalischen Teil entgegenwirkt, damit die Zelle ihren Ursprungszustand wieder erreicht.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass bei der Aufstellung der Gleichungen und Differentialgleichungen einige Annahmen zur Vereinfachung getroffen wurden. Für ausführliche Begründungen verweisen wir auf *Gennemark et al. (2006)*, Kapitel 2.

3.1 Das biophysikalische Modell

Im biophysikalischen Teil beschreiben verschiedene Gleichungen den Zusammenhang zwischen dem Zellvolumen (V), Turgordruck (Π_t), internen osmotischen Druck (Π_i) und dem externen osmotischen Druck (Π_e).

Wenn sich die Zelle im Gleichgewicht befindet, das heißt, dass das Wasserpotential innerhalb und außerhalb der Zelle gleich ist und der Turgordruck den Unterschied zwischen dem internen und externen osmotischen Druck ausgleicht, gilt die Gleichung

$$\Pi_i(0) = \Pi_e(0) + \Pi_t(0). \quad (1)$$

In dem hier behandelten Fall entspricht dieser Zustand dem Verhalten der Zelle bis zum Zeitpunkt des Herbeiführens eines osmotischen Schocks, also für $t \leq 0$, wobei t der Zeit entspricht.

Es wird angenommen, dass sich das Volumen (V) nur durch Ein- und Ausfluss von Wasser verändert. Da der Durchfluss von Wasser durch die Zellmembran proportional zu $(\Pi_i(t) - \Pi_e(t) - \Pi_t(t))$ ist, ergibt sich die folgende Differentialgleichung

$$V'(t) = k_{p1}(\Pi_i(t) - \Pi_e(t) - \Pi_t(t)) \quad (2)$$

wobei k_{p1} eine Konstante für die hydraulische Wasserdurchlässigkeitskonstante mal der Zelloberfläche ist, welche als konstant angenommen wird. Da das Volumen zur Zeit $t \leq 0$ konstant ist, hebt die Gleichung (2) die Gleichung (1) auf.

Weiter soll angenommen werden, dass nur Glycerol im Zellinneren den osmotischen Zustand beeinflusst, also als Osmolyt dient. Aus diesem Grund wird der interne osmotische Druck wie folgt nach dem Van't Hoff'schen Gesetz berechnet

$$\Pi_i(t) = \frac{n + Gly(t)}{V(t) - V_b}, \quad (3)$$

wobei $Gly[mol]$ das wichtigste Osmolyt ist, n die Anzahl (konstant angenommen) der Moleküle ist, die auch im Inneren der Zelle osmotisch aktiv sind, und V_b das Volumen beschreibt, welches nicht durch den osmotischen Schock beeinflusst wird.

Der externe osmotische Druck verändert sich nur durch die Eingabegröße, in dem hier behandelten Fall die Hinzugabe von Salz und demzufolge unabhängig von den anderen Variablen. Diese Annahme kann getroffen werden, da zum einen das äußere zelluläre Volumen um einiges größer ist als das interne zelluläre Volumen und zum anderen der Austausch von zum Beispiel Glycerol in und aus der Zelle nicht berücksichtigt wird.

Der Turgordruck ist aufgrund der Elastizität der Zellwand nur abhängig vom Volumen. Wenn $\Pi_t = 0$ ist, ist das Volumen konstant gleich $V^{\Pi_t=0}$, und damit gilt

$$\Pi_t(t) = \begin{cases} \Pi_t(0) \frac{V(t) - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}}, & V(t) > V^{\Pi_t=0} \\ 0, & \text{sonst} \end{cases} \quad (4)$$

3.2 Das Kontrollsystem

Wie in Kapitel 2 beschrieben, wird das Kontrollsystem durch den Turgordruck kontrolliert. Eine Abnahme des osmotischen Drucks führt sowohl zum Schließen des Fps1-Kanals als auch zur Aktivierung des HOG Signalweges. Dieser Einfluss wird durch die Gleichung

$$e(t) = \Pi_t(0) - \Pi_t(t) \quad (5)$$

beschrieben. Aufgrund der Änderung des osmotischen Drucks wird der Ein- und Ausfluss von Glycerol durch den Fps1 Kanal angepasst. Dieses geschieht durch die Funktion $uFps1$, welche die Teilchenstromdichte des Kanals in Abhängigkeit des Turgordrucks angibt. Das heißt, die Funktion gibt an, wieviel Teilchen einer Stoffmenge sich pro Zeiteinheit durch den Kanal bewegen. Dabei nimmt die Funktion $uFps1$ den Wert 0 an, falls der Kanal geschlossen ist, und den Wert k_{p2} , falls er offen ist.

$$u_{Fps1}(t) = \begin{cases} k_{p2} \frac{\Pi_t(0) - e(t)}{\Pi_t(0)}, & e(t) > 0 \\ k_{p2}, & \text{sonst} \end{cases} \quad (6)$$

Der Austausch vom inneren und äußeren Glycerol über den *Fps1* Kanal wird nach Ficks erstem Gesetz durch die Gleichung

$$u_{Diff}(t) = u_{Fps1}(t) \left(\frac{Gly(t)}{V(t) - V_b} - \frac{Gly_e(t)}{V_e} \right) \quad (7)$$

beschrieben, wobei V_e das äußere zelluläre Volumen und Gly_e das Glycerol außerhalb der Zelle ist.

Um dem Verlust des Volumens entgegen zu wirken, wird zusätzlich zum Schließen des *Fps1* Kanals der HOG Signalweg aktiviert, was zu einer erhöhten Produktion von Glycerol führt. Im folgenden werden alle Prozesse, die im HOG Signalweg und bei der Genexpression durchlaufen werden, durch eine Funktion vereinfacht. Wieviel mehr Glycerol produziert wird, ist abhängig von der Höhe des Turgorverlustes. Die folgende Gleichung beschreibt mit Hilfe von einer Proportionalitätskonstante k_{HOG} die durch den osmotischen Schock bewirkte erhöhte Glycerolproduktion

$$u_{HOG}(t) = \begin{cases} k_{HOG}e(t), & e(t) > 0 \\ 0, & \text{sonst} \end{cases} \quad (8)$$

Die folgende Funktion beschreibt die Gesamtglycerolproduktion, wobei die zusätzliche Glycerolproduktion, welche in Gleichung (8) beschrieben wurde, durch eine Zeitverzögerungskonstante weiter geleitet wird. Diese Vereinfachung kann angenommen werden, da der Prozess, der zu einer erhöhten Glycerolbildung führt, eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt.

$$\tilde{u}_{HOG}(t)' = \frac{1}{t_d}(u_{HOG}(t) - \tilde{u}_{HOG}(t)) \quad (9)$$

Dabei bezeichnet $\tilde{u}_{HOG}(t)$ die zeitverzögerte Funktion und t_d die Zeitverzögerung.

Die Veränderung des Glycerolgehalts ist somit abhängig von der Produktion (9) abzüglich des Flusses durch den *Fps1* Kanal.

$$Gly'(t) = \tilde{u}_{HOG}(t) - u_{Diff}(t) \quad (10)$$

Dementsprechend verändert sich der externe Glycerolgehalt nur durch den Austausch von Glycerol durch den *Fps1* Kanal

$$Gly_e'(t) = u_{Diff}(t). \quad (11)$$

3.3 Das abgeschlossene System

Durch Zusammenfassung von Gleichungen erhält man ein abgeschlossenes System, welches aus insgesamt vier gekoppelten Differentialgleichungen besteht. Genauer gesagt, muss nun eine gewöhnliche Differentialgleichung der Form $u'(t) = f(t, u(t))$ mit $f : [0, \infty) \times G \subseteq \mathbb{R}^4 \rightarrow \mathbb{R}^4$ gelöst werden, wobei

$$\begin{aligned} u'_1(t) &= \tilde{u}'_{HOG}(t) \\ u'_2(t) &= Gly'_e(t) \\ u'_3(t) &= Gly'(t) \\ u'_4(t) &= V'(t) \end{aligned}$$

gilt.

Der erste Eintrag beschreibt die Glycerolproduktion

$$\tilde{u}'_{HOG}(t) = \frac{1}{t_d} \begin{cases} -\tilde{u}_{HOG}(t), & V(0) \leq V(t), \\ k_{HOG}\Pi_t(0) \left(1 - \frac{V(t)-V^{\Pi_t=0}}{V(0)-V^{\Pi_t=0}}\right) - \tilde{u}_{HOG}(t), & V^{\Pi_t=0} < V(t) < V(0), \\ k_{HOG}\Pi_t(0) - \tilde{u}_{HOG}(t), & V(t) \leq V^{\Pi_t=0}. \end{cases} \quad (12)$$

Als nächstes wird die Veränderung des externen Glycerolgehalts angegeben:

$$Gly'_e(t) = \left(\frac{Gly(t)}{V(t) - V_b} - \frac{Gly_e(t)}{V_e} \right) \begin{cases} k_{p2}, & V(0) \leq V(t), \\ k_{p2} \frac{V(t)-V^{\Pi_t=0}}{V(0)-V^{\Pi_t=0}}, & V^{\Pi_t=0} < V(t) < V(0), \\ 0, & V(t) \leq V^{\Pi_t=0}. \end{cases} \quad (13)$$

Der interne Glycerolgehalt wird durch die Gleichung

$$Gly'(t) = \tilde{u}_{HOG}(t) - \left(\frac{Gly(t)}{V(t) - V_b} - \frac{Gly_e(t)}{V_e} \right) \begin{cases} k_{p2}, & V(0) \leq V(t), \\ k_{p2} \frac{V(t)-V^{\Pi_t=0}}{V(0)-V^{\Pi_t=0}}, & V^{\Pi_t=0} < V(t) < V(0), \\ 0, & V(t) \leq V^{\Pi_t=0}. \end{cases} \quad (14)$$

beschrieben und im letzten Eintrag wird die Veränderung des Volumens dargestellt,

$$V'(t) = k_{p1} \begin{cases} \frac{n+Gly(t)}{V(t)-V_b} - \Pi_e(t) - \Pi_t(0) \frac{V(t)-V^{\Pi_t=0}}{V(0)-V^{\Pi_t=0}}, & V(t) > V^{\Pi_t=0}, \\ \frac{n+Gly(t)}{V(t)-V_b} - \Pi_e(t) & \text{sonst.} \end{cases} \quad (15)$$

Die Anfangsbedingungen dieses Systems sind durch Messdaten und Parameterschätzungen gegeben, was im Kapitel 5 weiter erläutert wird.

4 Existenz und Eindeutigkeit

Um die Existenz und Eindeutigkeit einer Lösung für das Anfangswertproblem zu erhalten, wird der Satz von Carathéodory benötigt. Der Satz von Peano ist hier nicht anwendbar, da die Funktion $\Pi_e(t)$, die den externen osmotischen Druck beschreibt, nicht stetig ist.

Definition 4.1. Eine Funktion $f : [0, T] \times M \subseteq \mathbb{R} \times \mathbb{R}^d \rightarrow \mathbb{R}^d$ genügt auf $[0, T] \times M$ einer **Carathéodory-Bedingung** genau dann, wenn

(i) die Abbildung $t \mapsto f_i(t, v)$ ($i = 1, \dots, d$) für alle $v \in M$ auf $[0, T]$ Lebesgue-messbar sind und

(ii) die Abbildung $v \mapsto f_i(t, v)$ ($i = 1, \dots, d$) für fast alle $t \in [0, T]$ aus M stetig sind

Satz 4.1. (lokale Lösbarkeit, Carathéodory 1918)

Sei $T > 0$, $u_0 \in \mathbb{R}$ und $t_0 \in [0, T]$. Genügt $f : [0, T] \times \overline{B}(u_0, r) \rightarrow \mathbb{R}^d$ einer Carathéodory-Bedingung und einer Majorantenbedingung, so dass $\|f(t, v)\| \leq m(t)$ für alle $t \in [0, T]$ und $v \in \overline{B}(u_0, r)$, $m \in L^1(0, T)$, so besitzt die Integralgleichung $u(t) = u_0 + \int_{t_0}^t f(s, u(s)) ds$ auf einem Intervall $[t_0 - \tau, t_0 + \tau] \cap [0, T] =: I_\tau$ mindestens eine Lösung $u : I_\tau \rightarrow \overline{B}(u_0, r)$. Dabei ist u absolut stetig. Ferner ist $\tau > 0$ so zu bestimmen, als dass $\max_{t \in I_\tau} \left| \int_{t_0}^t m(s) ds \right| \leq r$.

Beweis. siehe dazu DGL I Vorlesungsmitschrift bzw. Walter, W.(2000) □

Satz 4.2. Die in Kapitel 3.3 vorgestellte gewöhnliche Differentialgleichung besitzt nach dem Satz 4.1 lokal mindestens eine Lösung.

Beweis. Setze $M = \mathbb{R}^3 \times]V_b, \infty[$. Dann kann $\overline{B}(u_0, r) \subseteq M$ gewählt werden.

Die Funktion f genüge einer Carathéodory-Bedingung, da $t \mapsto f(t, u)$ für alle $u \in \overline{B}(u_0, r)$ auf $[0, T]$ eine stückweise stetige Funktion ist, also Lebesgue-messbar und $u \mapsto f(t, u)$ für fast alle $t \in [0, T]$ auf $\overline{B}(u_0, r)$ eine Komposition von stetigen Funktionen ist, also stetig.

Zu zeigen bleibt, dass die Funktion f eine Majoranten-Bedingung genügt, das heißt, dass ein $m = m(t) \in L^1(0, T)$ existiert, so dass $\|f(t, u)\| \leq m(t)$ für alle $t \in [0, T]$ und $u \in \overline{B}(u_0, r)$ gilt.

1. Fall: Sei $V(0) \leq V$. Dann gilt

$$\begin{aligned}
\|f(t, u)\|^2 &= \left(\frac{1}{t_d} \tilde{u}_{HOG}\right)^2 + \left(\frac{Gly}{V - V_b} - \frac{Gly_e}{V_e}\right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\tilde{u}_{HOG} - \left(\frac{Gly}{V - V_b} - \frac{Gly_e}{V_e}\right) k_{p2}\right)^2 \\
&\quad + \left(\frac{n + Gly}{V - V_b} - \Pi_e(t) - \Pi_t(0) \frac{V - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}}\right)^2 k_{p1}^2 \\
&= \left(1 + \frac{1}{t_d^2}\right) \tilde{u}_{HOG}^2 + 2 \left(\frac{Gly}{V - V_b} - \frac{Gly_e}{V_e}\right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad - 2\tilde{u}_{HOG} \left(\frac{Gly}{V - V_b} - \frac{Gly_e}{V_e}\right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\frac{n + Gly}{V - V_b} - \Pi_t(0) \frac{V - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}}\right)^2 k_{p1}^2 \\
&\quad + k_{p1}^2 \Pi_e(t)^2 - 2\Pi_e(t) k_{p1} \left(\frac{n + Gly}{V - V_b} - \Pi_t(0) \frac{V - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}}\right) \\
&\leq C + k_{p1}^2 \Pi_e(t)^2 - 2\Pi_e(t) k_{p1} c \\
&\leq \tilde{c}^2 + k_{p1}^2 \Pi_e(t)^2 - 2\Pi_e(t) k_{p1} \tilde{c} \\
&= (\Pi_e(t) k_{p1} - \tilde{c})^2
\end{aligned}$$

wobei C, c und \tilde{c} geeignet gewählt wurden.

Die Funktion

$$m(t) := \Pi_e(t) k_{p1} - \tilde{c} \tag{16}$$

ist Lebesgue-integrierbar, da $\Pi_e(t)$ eine beschränkte stückweise stetige Funktion ist.

Für $V \leq V(0)$ folgt mit analogen Überlegungen die Behauptung. \square

Als nächstes wird unter Verwendung der folgenden beiden Sätze die Eindeutigkeit der Lösung gezeigt.

Satz 4.3. (Maximale fortgesetzte Lösung)

Seien $J \subseteq \mathbb{R}$ ein offenes Intervall und $D \subseteq \mathbb{R}^d$ offen und genüge $f : J \times D \rightarrow \mathbb{R}^d$ einer Carathéodory-Bedingung. Außerdem gebe es für jede kompakte Teilmenge $K \subset D$ eine Majorante $m_K \in L^1(J)$, so dass $\|f(t, v)\| \leq m_K(t)$ für alle $t \in J, v \in K$. Dann gibt es zu jedem $(t_0, u_0) \in J \times D$ mindestens eine maximal fortgesetzte Lösung im Sinne von Carathéodory des Anfangswertproblems $u'(t) = f(t, u(t)), u(t) = u_0$, und zwar auf einem offenen Existenzintervall $(\alpha, \beta) \subseteq J_i$. Diese verläuft gegen den Rand von $J \times D$.

Satz 4.4. Unter den Voraussetzungen des Satzes 4.3 und zu jedem $K \subset\subset D$ gebe es eine Funktion $l \in L^1(J)$, so dass $\|f(t, v) - f(t, w)\| \leq l(t) \|v - w\|$ für alle $t \in J, v, w \in K$. Dann gibt es zu jedem $(t_0, u_0) \in J \times D$ genau eine maximal fortgesetzte Lösung im Sinne von Carathéodory des Anfangswertproblems, die zum Rand von $J \times D$ läuft.

Beweis. siehe zum Beispiel: Walter, W. (2000) □

Satz 4.5. *Die im Satz 4.2 behandelte Differentialgleichung ist eindeutig.*

Beweis. Wähle $D \subseteq \mathbb{R}^3 \times]V_b, \infty[$. Dann folgt mit Überlegungen analog zu jenen aus dem Beweis von Satz 4.2, dass eine maximal fortgesetzte Lösung auf D existiert.

Es bleibt zu zeigen, dass f einer Lipschitz-Bedingung genügt.

Seien dazu $u_1, u_2 \in K$. Dann folgt für alle $t \in J$:

1. Fall: Sei $V(0) \leq V_1, V_2$. O.B.d.A. $V_2 < V_1$ Dann gilt

$$\begin{aligned}
& \|f(t, u_1) - f(t, u_2)\|^2 \\
&= \left(\frac{1}{t_d} (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2}) \right)^2 + \left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_{e1}}{V_e} - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2} - \left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_{e1}}{V_e} - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right) k_{p2} \right)^2 \\
&\quad + \left(\frac{n + Gly_1}{V_1 - V_b} - \Pi_e(t) - \Pi_t(0) \frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} - \frac{n + Gly_2}{V_2 - V_b} + \Pi_e(t) + \Pi_t(0) \frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 k_{p1}^2 \\
&\leq \left(\frac{1}{t_d^2} + 2 \right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + 2k_{p1}^2 \left(\frac{1}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 (V_1 - V_2)^2 \\
&\quad + \frac{6k_{p2}^2}{V_e^2} (Gly_{e1} - Gly_{e2})^2 + (6k_{p2}^2 + 2k_{p1}^2) \left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} \right)^2 \\
&\leq \left(\frac{1}{t_d^2} + 2 \right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + 2k_{p1}^2 \left(\frac{1}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 (V_1 - V_2)^2 \\
&\quad + \frac{6k_{p2}^2}{V_e^2} (Gly_{e1} - Gly_{e2})^2 + (6k_{p2}^2 + 2k_{p1}^2) \left(\frac{Gly_1 - Gly_2}{V_2 - V_b} \right)^2 \\
&\leq \left(\frac{1}{t_d^2} + 2 \right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + 2k_{p1}^2 \left(\frac{1}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 (V_1 - V_2)^2 \\
&\quad + \frac{6k_{p2}^2}{V_e^2} (Gly_{e1} - Gly_{e2})^2 + \left(\frac{6k_{p2}^2 + 2k_{p1}^2}{(V(0) - V_b)^2} \right) (Gly_1 - Gly_2)^2 \\
&\leq L \quad \|u_1 - u_2\|^2
\end{aligned}$$

mit

$$L := \max \left\{ \frac{1}{t_d^2} + 2, \quad 2k_{p1}^2 \left(\frac{1}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2, \quad \frac{6k_{p2}^2}{V_e^2}, \quad \frac{6k_{p2}^2 + 2k_{p1}^2}{(V(0) - V_b)^2} \right\}$$

2. Fall: Sei $V^{\Pi_t=0} < V_1 < V(0) < V_2$.

Da

$$\frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} < 1,$$

ist, folgt wie im 1. Fall

$$\begin{aligned}
& \|f(t, u_1) - f(t, u_2)\| \\
&= \frac{1}{t_d^2} \left((\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2}) + k_{HOG} \Pi_t(0) \left(1 - \frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right) \right)^2 \\
&\quad + \left(\left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_{e1}}{V_e} \right) \left(\frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right) - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2} - \left(\left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_{e1}}{V_e} \right) \left(\frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right) - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right) k_{p2} \right)^2 \\
&\quad + \left(\frac{n + Gly_1}{V_1 - V_b} - \Pi_e(t) - \Pi_t(0) \frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} - \frac{n + Gly_2}{V_2 - V_b} + \Pi_e(t) + \Pi_t(0) \frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 k_{p1}^2 \\
&\leq \frac{2}{t_d^2} (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \frac{2(k_{HOG} \Pi_t(0))^2}{t_d^2} + \left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_{e1}}{V_e} - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2} + \left(-\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} + \frac{Gly_{e1}}{V_e} + \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} - \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right) k_{p2} \right)^2 \\
&\quad + \left(\frac{n + Gly_1}{V_1 - V_b} - \Pi_e(t) - \Pi_t(0) \frac{V_1 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} - \frac{n + Gly_2}{V_2 - V_b} + \Pi_e(t) + \Pi_t(0) \frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 k_{p1}^2 \\
&\leq \tilde{L} \|u_1 - u_2\|^2
\end{aligned}$$

3. Fall: Sei $V^{\Pi_t=0} < V_1, V_2 < V(0)$

Führt mit den selben Überlegungen wie im 2. Fall zur Behauptung.

4. Fall: Sei $V_b < V_1 < V^{\Pi_t=0} < V_2 < V(0)$. Dann gilt

$$\begin{aligned}
& \|f(t, u_1) - f(t, u_2)\| \\
&= \frac{1}{t_d^2} \left((\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2}) + k_{HOG} \Pi_t(0) \left(\frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right) \right)^2 \\
&\quad + \left(-\frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right)^2 \left(\frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2} + \left(\left(\frac{Gly_2}{V_2 - V_b} - \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right) \left(\frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right) \right) k_{p2} \right)^2 \\
&\quad + \left(\frac{n + Gly_1}{V_1 - V_b} - \Pi_e(t) - \frac{n + Gly_2}{V_2 - V_b} + \Pi_e(t) + \Pi_t(0) \frac{V_2 - V^{\Pi_t=0}}{V(0) - V^{\Pi_t=0}} \right)^2 k_{p1}^2 \\
&\leq \frac{1}{t_d^2} ((\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2}) + k_{HOG} \Pi_t(0))^2 + \left(-\frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + \left(\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2} + \left(\left(\frac{Gly_2}{V_2 - V_b} - \frac{Gly_{e2}}{V_e} \right) \right) k_{p2} \right)^2 + \left(\frac{Gly_1}{V_2 - V_b} - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \Pi_t(0) \right)^2 k_{p1}^2
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&\leq \left(\frac{2}{t_d^2} + 2\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + 2 (k_{HOG}\Pi_t(0))^2 + 3 \left(-\frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e}\right)^2 k_{p2}^2 \\
&\quad + 2k_{p1}^2 \left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_2}{V_2 - V_b}\right)^2 + 2 (\Pi_t(0))^2 k_{p1}^2 \\
&\leq \left(\frac{2}{t_d^2} + 2\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \frac{2k_{p1}^2}{(V^{\Pi_t=0} - V_b)^2} (Gly_1 - Gly_2)^2 \\
&\quad + 2 (\Pi_t(0))^2 (k_{HOG}^2 + k_{p1}^2) + 3 \left(-\frac{Gly_2}{V_2 - V_b} + \frac{Gly_{e2}}{V_e}\right)^2 k_{p2}^2 \\
&\leq \left(\frac{2}{t_d^2} + 2\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \frac{2k_{p1}^2}{(V^{\Pi_t=0} - V_b)^2} (Gly_1 - Gly_2)^2 \\
&\quad + 2 (\Pi_t(0))^2 (k_{HOG}^2 + k_{p1}^2) + \frac{6k_{p2}^2}{(V^{\Pi_t=0} - V_b)^2} (Gly_2)^2 + \frac{6k_{p2}^2}{(V_e)^2} (Gly_{e2})^2 \\
&\leq \left(\frac{2}{t_d^2} + 2\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \frac{2k_{p1}^2}{(V^{\Pi_t=0} - V_b)^2} (Gly_1 - Gly_2)^2 \\
&\quad + 2 (\Pi_t(0))^2 (k_{HOG}^2 + k_{p1}^2) + \frac{6k_{p2}^2}{(V^{\Pi_t=0} - V_b)^2} (m_2)^2 + \frac{6k_{p2}^2}{(V_e)^2} (m_{e2})^2 \\
&\leq \bar{L} \|u_1 - u_2\|
\end{aligned}$$

mit

$$m_2 := \max \{Gly : Gly \in K\} \text{ und } m_{e2} := \max \{Gly_e : Gly_e \in K\}$$

und

$$\bar{L} := \max \left\{ m_2, \quad m_{e2}, \quad \frac{2}{t_d^2} + 2, \quad \frac{2k_{p1}^2}{(V^{\Pi_t=0} - V_b)^2} \right\}$$

4. Fall: Sei $V_b < V_1, V_2 < V^{\Pi_t=0}$. Dann gilt

$$\begin{aligned}
&\|f(t, u_1) - f(t, u_2)\| \\
&= \left(\frac{1}{t_d^2} + 1\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \left(\frac{Gly_1}{V_1 - V_b} - \frac{Gly_1}{V_2 - V_b}\right)^2 k_{p1}^2 \\
&\leq \left(\frac{1}{t_d^2} + 1\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \frac{k_{p1}^2}{(V_2 - V_b)^2} (Gly_1 - Gly_1)^2 \\
&\leq \left(\frac{1}{t_d^2} + 1\right) (\tilde{u}_{HOG1} - \tilde{u}_{HOG2})^2 + \frac{k_{p1}^2}{m} (Gly_1 - Gly_1)^2 \\
&\leq \hat{L} \|u_1 - u_2\|
\end{aligned}$$

wobei

$$m := \min \{V : V \in K\} - V_b$$

und

$$\widehat{L} := \max \left\{ \frac{1}{t_d^2} + 1, \quad \frac{k_{p1}^2}{m} \right\}$$

Mit geeigneter Wahl von L_K für alle K folgt die Behauptung.

□

5 Die Parameterschätzung

Um das abgeschlossene System (vgl. Kapitel 3.3) zu lösen, werden die Anfangswerte der gewöhnlichen Differentialgleichung benötigt. Diese werden aus verschiedenen Experimenten geschätzt beziehungsweise berechnet.

Das Gesamtmodell besteht aus insgesamt 14 Parametern, wobei 4 Parameter von den anderen abhängig sind. In der nachfolgenden Tabelle wird beschrieben, wie diese Parameter berechnet werden.

Abhängige Parameter		Wertbestimmung
$V(0)$	V Anfangswert (relativer Wert)	1
$Gly_e(0)$	Gly_e Anfangswert	$V_e Gly(0)/(V(0) - V_b)$
$\Pi_t(0)$	Π_t Anfangswert	$\Pi_i(0) - \Pi_2(0)$
n	Anzahl an osmotisch aktiven Molekülen abgesehen von Gly	$\Pi_t(0)(V(0) - V_b) - Gly(0)$

Tabelle 1: Die Berechnung der abhängigen Parameter

Die anderen Parameter müssen auf Grundlage der experimentellen Daten geschätzt werden.

In den letzten 20 Jahren wurden 8 verschiedene Experimente durchgeführt, bei denen unter Zugabe von unterschiedlichen Mengen Salz die interne Glycerolkonzentration $[Gly(t)]$ oder die Gesamtglycerolkonzentration $[Gly_{tot}(t)]$ gemessen wurden, die wie folgt berechnet werden:

$$[Gly(t)] = \frac{Gly(t)}{V(t) - V_b}, \quad (17)$$

$$[Gly_{tot}(t)] = \frac{Gly(t) + Gly_e(t)}{V(t) - V_b + V_e}. \quad (18)$$

Mit Hilfe dieser Messdaten wurden die anderen Parameter geschätzt. Die daraus resultierenden Simulationen hat man mit den Experimenten verglichen. Jedoch war es abgesehen von t_d nicht möglich, die weiteren Parameter exakt anzugeben, so dass ohne weitere Annahmen unendlich viele Lösungen existierten. Deshalb wurden die beiden Parameter $\Pi_e(0)$ und k_{p1} , festgesetzt. Zur Begründung dieses Vorgehens sei auf *Gennemark et al. (2006)* verwiesen, Seite 17.

Da für die jeweiligen Experimente unterschiedlich gute Ergebnisse erzielt wurden, wurde die Summe der quadratischen Abweichungen über die experimentellen und simulierten Daten von Glycerol minimiert. Genauer gesagt, bedeutet dies die Minimierung der folgenden Gleichung

$$\text{Fehler} = \sum_i (X(t_i) - Y(t_i))^2 \quad (19)$$

wobei i die gemessenen Punkte indiziert und X und Y die simulierten und experimentellen Werte bezeichnen.

Das dadurch erhaltene Minimum dient nun als Modellparameter, welche auch für diese Berechnungen genutzt werden.

Parameter		Wert
$Gly(0)$	Gly Anfangswert	0.0002 Mol
$\Pi_i(0)$	Π_i Anfangswert	0.636 Osm
$\Pi_e(0)$	Π_e Anfangswert	0.240 Osm
V_b	nicht-osmotisches Volumen	0.368 Mol
V_e	Externes Volumen	4790 Mol
k_{p1}	Wasser perm. Koeffizient	$1.00 Osm^{-1}$
k_{p1}	Gly perm. Koeffizient in Fps1	0.316
$V^{\Pi_t=0}$	V für $\Pi_t = 0$	0.990 Mol
k_{HOG}	HOG Signalweg Kontroll-Konstante	$0.416 Osm^{-1}$
t_d	Zeitverzögerung	8.61 min

Tabelle 2: Modellparameter

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass die Sensitivität der Modellparameter überprüft wurde. Für weitere Ergebnisse hinsichtlich dieser Untersuchungen wird auf *Genemark et al. (2006)* verwiesen, Seite 18 und 19.

6 Die Ergebnisse im Vergleich

Die in den vorherigen Kapiteln vorgestellte Differentialgleichung wurde unter Verwendung der geschätzten Anfangswerte (vgl. Kapitel 5) mit Hilfe von Matlab gelöst. Wir werden in diesem Kapitel unsere wichtigsten Ergebnisse vorstellen und sie mit den Daten von *Gennemark et al. (2006)* vergleichen.

Im ersten Unterabschnitt wird die Simulation eines osmotischen Schocks vorgestellt, wohingegen wir in den weiteren Unterabschnitten weitere Tests durchführen, um die Brauchbarkeit unseres Systems zu testen.

6.1 Die Simulation eines osmotischen Schocks

Die nachfolgende Graphik stellt die Simulation eines osmotischen Schocks unter Zugabe von $0.5M$ NaCl dar.

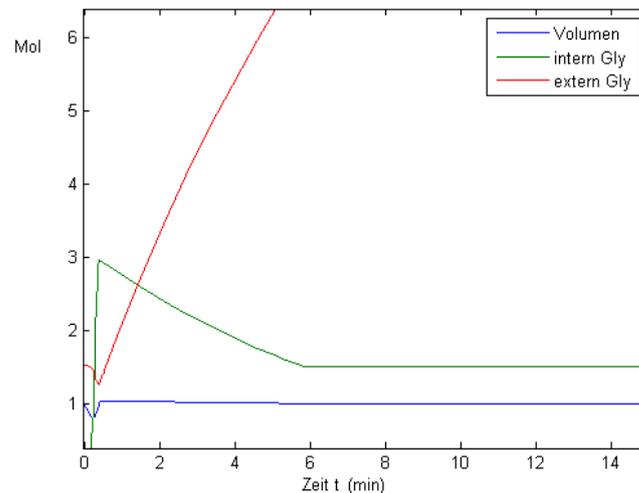


Abbildung 4: Die Simulation eines osmotischen Schocks unter Zugabe von 0.5 NaCl

Diese Graphik verdeutlicht die durch die Zugabe von Salz resultierende Volumenabnahme und der stark ansteigende interne Glycerolgehalt, was im Schließen des *Fps1*-Kanals und die vermehrte Produktion von Glycerol begründet ist. Sobald das Volumen sein Maximum erreicht hat, nimmt der interne Glycerolgehalt wieder ab, da unter anderem der *Fps1*-Kanal wieder vollständig geöffnet ist.

Überraschend ist jedoch die Abnahme des externen Glycerolgehalts, sobald das Volumen sein Minimum erreicht hat. Es stellt sich die Frage, wohin das Glycerol geflossen ist. Unter Betrachtung der Differentialgleichung kann nur ein Austausch durch den *Fps1*-Kanal

stattgefunden haben. Das bedeutet, dass externes Glycerol ins Innere der Hefezelle geflossen ist, was jedoch im Widerspruch zum geschlossenen Kanal steht. Der *Fps1*-Kanal wird erst zu dem Zeitpunkt geöffnet, wenn das Volumen den Wert $V^{\Pi t=0}$ erreicht hat. Das entspricht ein Volumen von 0.99 Mol.

Weiter ist es verwunderlich, dass das Volumen über seinen Anfangswert steigt. Der Modellierung zufolge müsste der *Fps1* Kanal ab diesem Zeitpunkt wieder vollständig geöffnet sein und das angesammelte Glycerol im Zellinneren nach außen fließen.

Nachdem sowohl das Volumen als auch der interne Glycerolgehalt sein Maximum erreicht haben, steigt der externe Glycerolgehalt logarithmisch an. Dies entspricht auch der Vorstellung, dass die Hefezelle ihren Ursprungszustand erreicht hat und kontinuierlich bei offenem *Fps1* Kanal eine gewisse Menge an Glycerol produziert.

Die folgende Abbildung stammt von *Gennemark et al. (2006)*. Sie zeigt zum einen die Ergebnisse von *Klipp et al. (2005)*, welche dem detaillierten Modell entsprechen, und zum anderen die Simulation von *Gennemark et al. (2006)* im Verhältnis gesetzt zu den Experimenten. Dabei bezeichnen die Quadrate und Rechtecke die Messdaten. Diese Graphik verdeutlicht unter anderem auch, dass die Simulation von *Gennemark (2006)* nicht der Realität entspricht, obwohl die reellen Daten zur Parameterschätzung und demzufolge zur Simulation genutzt wurden.

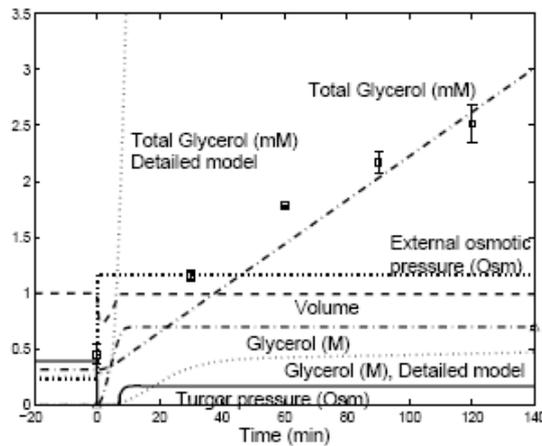


Abbildung 5: *Gennemark et al. (2006)*: Die Simulation eines osmotischen Schocks unter Zugabe von 0.5 NaCl.

Um unsere Ergebnisse besser mit den Experimenten und *Gennemark et al. (2006)* vergleichen zu können, haben wir in der nachfolgenden Abbildung 6 die interne Glycerolkonzentration, Gesamtglycerolkonzentration und das Volumen dargestellt.

Im Vergleich zur Abbildung 5 fällt auf, dass in unserer Simulation das Volumen zu schnell seinen Ursprungszustand wieder erreicht. Das heißt, dass das Volumen zu schnell steigt. In der Simulation von *Gennemark et al. (2006)* kehrt das Volumen nach knapp 10 min zu

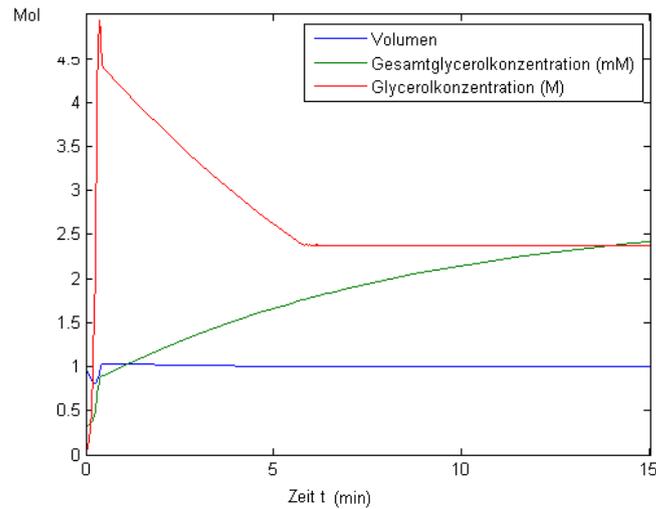


Abbildung 6: Die Simulation eines osmotischen Schocks unter Zugabe von 0.5 NaCl

seinem Ursprungszustand zurück, wohingegen in unserer Simulation dieses schon nach 1 min geschehen ist. Diese extrem schnelle Ab- bzw. Zunahme des Volumens kann abgesehen von einer falschen Skalierung, zwei Ursachen haben. Entweder nimmt der Glycerolgehalt zu schnell zu oder die Zeitverzögerungskonstante t_d für Glycerolproduktion ist falsch bemessen. Das Letztere konnte durch Tests widerlegt werden, da eine Erhöhung von t_d sogar eine schnellere Erholung des Volumens bewirkt.

Der starke Anstieg des internen Glycerols entspricht auch den Daten von *Gennemark(2006)*.

In der Abbildung 5 erkennt man einen sofortigen aber weit aus weniger steilen Anstieg der internen Glycerolkonzentration. Jedoch wird auch deutlich, dass beim Experiment nur 2 Messdaten existieren, einmal zum Zeitpunkt $t = 0$ und zum anderen Mal zum Zeitpunkt $t = 140$. Aus dieser Graphik wird nicht ersichtlich, wie die Daten zwischen diesen beiden Zeitpunkten zustande kommen. Da in unserer Simulation die interne Glycerolkonzentration nach einer kurzen Zeit wieder ein konstant niedriges Niveau erreicht, ist dies noch kein Widerspruch zum Experiment. Jedoch ist der erreichte konstante Wert im Vergleich zum Experiment zu hoch. Die Glycerolkonzentration in *Klipp et al.(2005)* Modell steigt im Gegensatz zu unserer Simulation schwächer an und erreicht später ihren konstanten Wert.

Interessant wäre an dieser Stelle zu untersuchen, ob man durch Glättung oder durch Ausschluss von V größer als seinen Ursprungszustand eine exaktere Modellierung erhält. In unserer Simulation ist zu vermuten, dass die Abnahme der internen Glycerolkonzentration durch das Überschreiten des Ursprungszustandes von V und der damit verbundenen Abnahme des Volumens begründet ist. (vgl. dazu Kapitel 7)

Des weiteren fällt in der Graphik von *Gennemark et al.(2006)* auf, dass die Gesamtglycerolkonzentration nach den Messdaten zu urteilen ein logarithmischen Anstieg vermuten lässt. *Gennemark et al.(2006)* haben jedoch für die Modellierung einen linearen wach-

senden Anstieg approximiert. Da für unsere Modellierung das *Gennemark et al. (2006)* Modell zugrunde liegt, war es sehr überraschend, dass unsere Simulation abgesehen von der Zeitvariable sehr gut mit den reellen Messdaten übereinstimmt. Auch in unserer Graphik kann man einen logarithmischen Anstieg der Gesamtglycerolkonzentration erkennen. Weiter ist zu bemerken, dass die Gesamtglycerolkonzentration im *Klipp et al. (2005)* Modell stark von der Realität abweicht, obwohl es sich in diesem Fall um eine sehr detaillierte Beschreibung des osmotischen Schocks im Vergleich zum Modell von *Gennemark et al. (2006)* handelt.

Als letztes sei an dieser Stelle erwähnt, dass in der Simulation von *Gennemark (2006)* der Turgordruck seinen Originalwert nicht wieder erreicht. Die Autoren begründen dieses durch die Parameterschätzung. Da jedoch laut der in vorherigen Kapitel vorgestellten Gleichungen, der Turgordruck nur vom Volumen abhängig ist und das Volumen vollständig generiert, stellt sich die Frage, wie dieses Ergebnis zustande gekommen ist. Laut Gleichung gilt, der Turgordruck nimmt genau dann seinen Ursprungswert an, wenn auch das Volumen seinen Ursprungswert annimmt.

6.2 Serien von osmotischen Schocks

Um die Brauchbarkeit unseres Systems zu überprüfen, haben wir im Zeitabstand von 15 min zwei osmotische Schocks erzeugt. Wie man in der Graphik 8 erkennen kann, ist unser System abgesehen von den im oberen Unterabschnitt diskutierten Problemen stabil in der aufeinanderfolgenden Ausführung von osmotischen Schocks (vgl. Abbildung 7).

Der zweite osmotische Schock wird wieder durch die Zugabe von 0.5 NaCL erzeugt. Das Volumen nimmt im Gegensatz zum ersten osmotischen Schock geringer ab, was auch den Ergebnissen von *Gennemark et al. (2006)* entspricht.

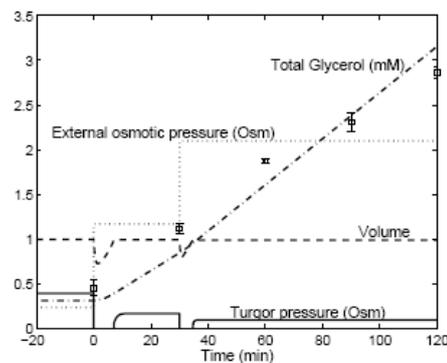


Abbildung 7: *Gennemark et al. (2006)*: Die Simulation zweier osmotischer Schocks ($t = 0$ und $t = 30$)

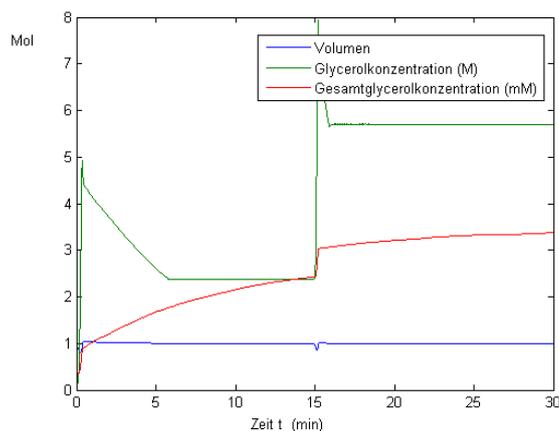


Abbildung 8: Die Simulation zweier osmotischer Schocks ($t = 0$ und $t = 15$)

6.3 Weitere Tests

Da das System zwei parallele Wege, zum einen den *Fps1* Kanal und zum anderen die Glycerolproduktion, beinhaltet, die den osmotischen Schock kontrollieren, haben *Gennemark et al. (2006)* untersucht, wie das System auf das Ausschalten eines Kontrollweges reagiert. Sie konnten das zu erwarteten Verhalten einer Hefezelle rekonstruieren.

Analog zu den oberen Unterabschnitten wurde in beiden Fällen wieder der osmotische Schock durch die Zugabe von 0.5 NaCl erzeugt.

6.3.1 Offener Glycerolkanal

Als erstes wird der Fall behandelt, in dem der *Fps1* Kanal konstant geöffnet ist. Experimente haben gezeigt, dass eine Überproduktion von Glycerol entsteht und damit eine fast doppelt so hohe Gesamtglycerolkonzentration im Vergleich zum normalen Modell gemessen wurde.

Um dieses zu simulieren, haben *Gennemark et al. (2006)* $u_{Fps1} = k_{p2}$ gesetzt und $Gly(0)$ den neuen Bedingungen angepasst. Auf der Grundlage dieser Modifikationen erreichten sie eine sehr gute Annäherung an die Messdaten.

Auch wir erreichten durch unsere Simulation ein ähnliches Resultat. Die Gesamtglycerolkonzentration erhöhte sich, jedoch nahm das Volumen stärker ab. Dieses ist jedoch dadurch zu begründen, dass wir den Anfangswert von $Gly(0)$ nicht verändert haben, da keine Daten zur Verfügung standen.

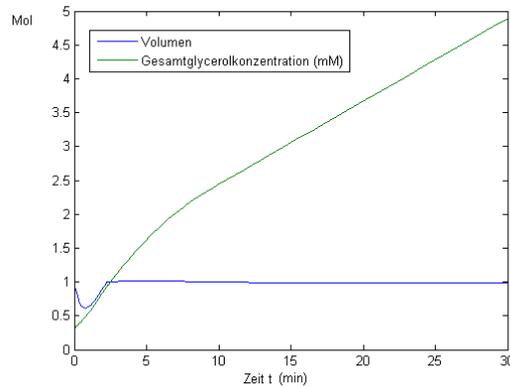


Abbildung 9: Simulation eines osmotischen Schocks bei Zugabe von 0.5 NaCl und konstant offenen *Fps1* Kanals

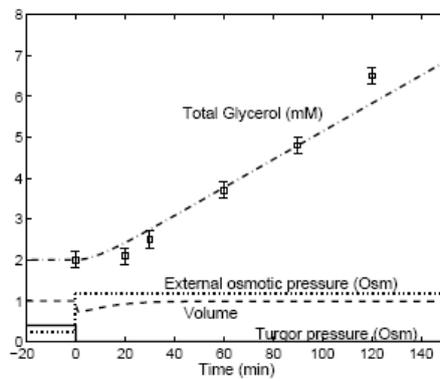


Abbildung 10: *Gennemark et al. (2006)*: Simulation eines osmotischen Schocks bei Zugabe von 0.5 NaCl und konstant offenen *Fps1* Kanals

6.3.2 Keine Glycerolproduktion

Des weiteren haben *Gennemark et al. (2006)* getestet, wie das Modell reagiert, wenn die Zelle nicht fähig ist, Glycerol zu bilden. Um dieses zu simulieren, haben sie $k_{HOG} = 0$ und $Gly(0) = 0$ gesetzt. Als Ergebnis erhielten sie eine sofortige Abnahme des Volumens auf einen konstanten Wert (ca. 0.75 Mol). Dieses entspricht auch der Vorstellung des Verhaltens einer Zelle, da sie den durch den osmotischen Schock entstandene Volumenabnahme nichts entgegenwirken kann.

Auch uns war es gelungen, dieses Resultat zu rekonstruieren. Da jedoch keine expliziten Angaben gemacht wurden, ob die Zelle überhaupt fähig ist, Glycerol zu bilden oder nur die zusätzliche Glycerolproduktion nicht möglich ist, haben wir uns für den Fall entschieden, dass die Zelle kein Glycerol produzieren kann. Das heißt, dass wir für alle Zeiten

t $Gly(t) = 0$ und $\tilde{u}_{HOG}(t) = 0$ gesetzt haben. Diese Entscheidung ist unter anderem dadurch begründet, dass sich sonst die Frage stellen würde, warum der Anfangswert von Glycerol gleich null ist, obwohl eine geringe Glycerolproduktion möglich ist. Da wir diese sehr starke Vereinfachung angenommen haben, sinkt in unserer Simulation das Volumen stärker ab, aber erreicht analog zum *Gennemark et al. (2006)* Modell einen konstant niedrigen Wert.

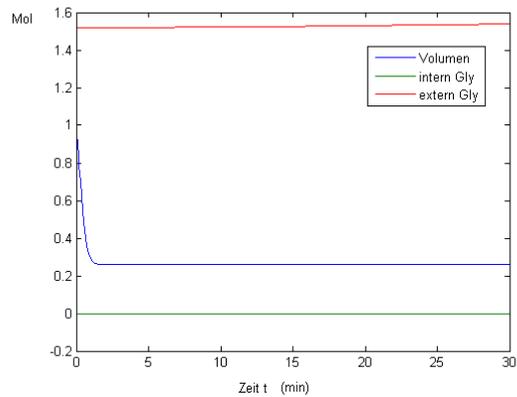


Abbildung 11: Simulation eines osmotischen Schocks bei Zugabe von 0.5 NaCl und keiner Glycerolproduktion

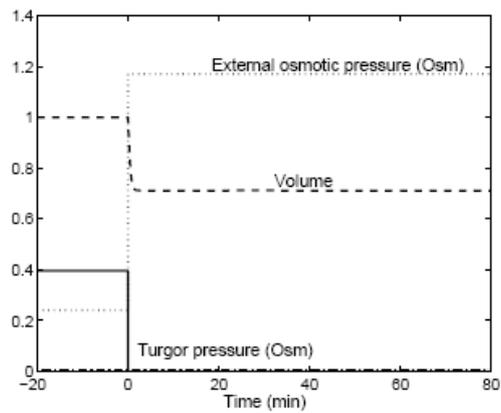


Abbildung 12: *Gennemark et al. (2006)*: Simulation eines osmotischen Schocks bei Zugabe von 0.5 NaCl und keiner Glycerolproduktion

7 Modifikationen des geschlossenen Systems

Da das zunächst untersuchte System weder der Realität noch den Simulationen von *Gennemark et al. (2006)* oder *Klipp et al. (2005)* entsprach, haben wir das System modifiziert.

Als Erstes haben wir verhindert, dass das Volumen über seinen Anfangswert steigen kann, in dem wir die erste Ableitung von V für $V(t) \geq V(0)$ gleich Null gesetzt haben. Desweiteren haben wir die Differentialgleichungen von Gly und $Glye$ vereinfacht, so dass nur noch zwei Fallunterschiedungen nötig waren. Diese Modifikation war möglich, da die Übergänge der verschiedenen Fälle stetig sind und das Volumen nur noch Werte kleiner oder gleich $V(0)$ annehmen kann.

Dieses neue System ist analog zu den Überlegungen im Kapitel 4 eindeutig lösbar. Als Ergebnis erhielten wir folgende Graphik

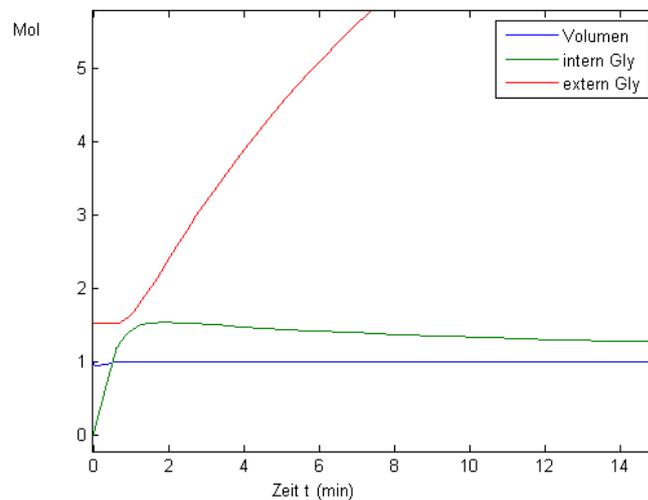


Abbildung 13: Die Simulation eines osmotischen Schocks mit Hilfe einer Modifikation am System

Das Ergebnis war teilweise überraschend, da nun ohne Veränderung der Anfangswerte die Volumenabnahme weniger stark als bei unseren vorherigen Simulationen ausfiel. Es bleibt eine offene Frage, wie dieses Ergebnis zustande gekommen ist. Außerdem nimmt der interne Glycerolgehalt nach Erreichen seines Maximums ab, ohne nach einer gewissen Zeit einen konstanten Wert zu erreichen, obwohl das Volumen nicht sinkt.

Dagegen ist der externe Glycerolgehalt nun monoton wachsend. Dies kann durch die Vereinfachung und damit exaktere numerische Berechnung begründet sein. Die Gesamtglycerolkonzentration entspricht abgesehen von der Zeit etwa den Messdaten.

Diese Ergebnisse haben unsere Vermutungen bestätigt, dass *Gennemark et al. (2006)*

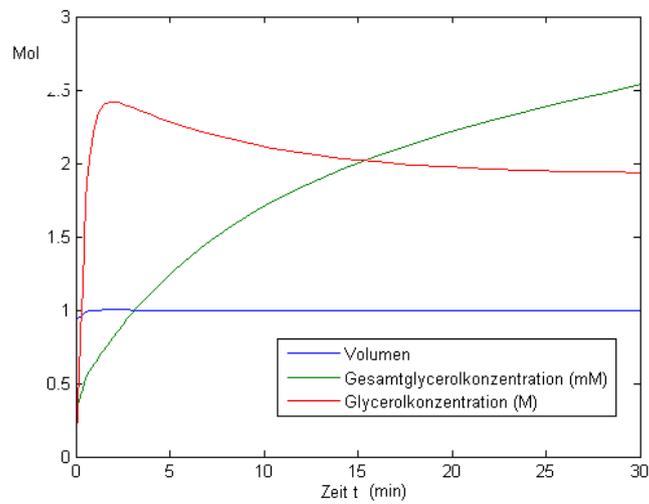


Abbildung 14: Die Simulation eines osmotischen Schocks mit Hilfe einer Modifikation am System.

weitere Annahmen getroffen haben müssen. Jedoch ist anzunehmen, dass unsere Modifikationen zu starken Einfluss auf das System genommen haben, so dass, abgesehen von der gut approximierten Gesamtglycerolkonzentration, die Simulationen stärker von dem *Gennemark et al. (2006)* Modell abwichen.

Eine offene Frage bleibt weiterhin, wie die extrem schnelle Volumenzunahme entstanden ist. Weitere Modifikationen des Systems, brachten bis jetzt leider nicht die gewünschten Resultate.

Literatur

- [1] Gennemark, P., Nordlander, B., Hohmann, S. und Wedeln, D., A simple mathematical model of adaptation to high osmolarity in yeast, *In Silico Biology* 6, 0018, 2006, Bioinformation Systems e.V.
- [2] Klipp E., Nordlander B., Gennemark P. and Hohmann S. 2005. Integrative model of the response of yeast to shock. *Nat. Biotechnol.* 23(8), 975-982
- [3] Klipp, E. 2007, Mathematische Modelle demonstrieren die Integration von Information durch zelluläre Signalwege, Max-Planck-Gesellschaft, www.mpg.de
- [4] Walter, W., *Gewöhnliche Differentialgleichungen*, 7. Auflage, Springer (2000) (Springer-Lehrbuch)