



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Wiskundige modellering van Notch en Delta signalering: De invloed van di-cis-inhibitie

Louter, J.A.

### Citation

Louter, J. A. *Wiskundige modellering van Notch en Delta signalering: De invloed van di-cis-inhibitie*.

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [License to inclusion and publication of a Bachelor or Master thesis in the Leiden University Student Repository](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4171388>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

J.A. Louter

Wiskundige modellering van Notch en Delta  
signalering: de invloed van di-cis-inhibitie

Bachelorscriptie

Begeleiding: Prof.dr. R.M.H. Merks en Dr. D.A. Baker

Datum: 9 april 2019



Universiteit Leiden  
Mathematisch Instituut

# Inhoudsopgave

<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>3</b>
1.1	Geschiedenis . . . . .	3
1.2	Transactivatie model van Notch en Delta . . . . .	3
1.3	Cis-inhibitie model van Notch en Delta . . . . .	5
1.4	Doel . . . . .	6
<b>2</b>	<b>Modelbeschrijving</b>	<b>8</b>
2.1	Collier et al. (1996) . . . . .	8
2.2	Mono-cis-inhibitie . . . . .	8
2.3	Mono-cis-inhibitie met NICD . . . . .	8
2.4	Di-cis-inhibitie met NICD . . . . .	9
2.4.1	Met vorming van dimeren . . . . .	9
2.4.2	Geen vorming van dimeren . . . . .	9
<b>3</b>	<b>Resultaten</b>	<b>10</b>
3.1	Invloed van cis-inhibitie . . . . .	10
3.1.1	Model met mono-cis-inhibitie . . . . .	10
3.1.2	Model met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren . .	11
3.1.3	Model met di-cis-inhibitie met vorming van dimeren . . .	12
3.2	Invloed transactivatie . . . . .	13
3.2.1	Model met mono-cis-inhibitie . . . . .	13
3.2.2	Model met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren . .	14
3.2.3	Model met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren . .	14
3.3	Invloed balans dimeer . . . . .	15
<b>4</b>	<b>Conclusie</b>	<b>17</b>
4.1	Invloed van cis-inhibitie . . . . .	17
4.2	Invloed transactivatie . . . . .	17
4.3	Balans dimeer . . . . .	17
4.4	Samenvatting . . . . .	18
<b>5</b>	<b>Discussie</b>	<b>19</b>
5.1	Wet der Massawerking . . . . .	19
5.2	Gebruikte parameters . . . . .	19
5.3	Jagged en verschillende types Notch en Delta . . . . .	19
5.4	NICD . . . . .	19
5.5	Vervolgonderzoek . . . . .	20
<b>6</b>	<b>Bijlage A</b>	<b>22</b>

# 1 Inleiding

Vanaf het moment dat een eicel en zaadcel samenkomen, begint de ontwikkeling van het embryo. Verschillende processen zorgen ervoor dat deze ontwikkeling goed verloopt. Een belangrijke rol hierin is weggelegd voor de proteïne Notch. Al vanaf de eerste stadia na bevruchting zorgt dit in het celmembraan gelegen proteïne ervoor dat cellen zich ontwikkelen in hun specifieke rollen.

Notch is een receptor, wat betekent dat het van structuur kan veranderen door een binding aan te gaan met andere eiwitten. Deze eiwitten worden liganden genoemd. Er zijn veel verschillende liganden die allemaal een andere rol en werking op de receptoren hebben waarmee ze een binding aangaan. Door het veranderen van de structuur van een receptor verandert ook de activiteit van de receptor. Hiermee wordt de transcriptie in de cel, en daarmee de specialisatie van de cel beïnvloed.

## 1.1 Geschiedenis

Het bestaan van Notch werd voor het eerst beschreven door Dexter (1914). Hij merkte op dat vleugels van de fruitvlieg *Drosophila melanogaster* verschillende fenotypen hadden. Deze vleugeltypen werden veroorzaakt door mutaties van een niet X-chromosomaal gen, tegenwoordig bekend als Notch. Hierdoor geïntrigeerd identificeerde Morgan (1917, [2]) vervolgens de allelen van Notch.

Poulsen (1937) beschreef het belang van Notch bij de ontwikkeling in de embryo. In zijn onderzoek verwijderde hij (delen van) chromosomen uit eitjes van de *D. melanogaster*. Hij merkte op dat bij het ontbreken van bepaalde delen chromosoom, het Notch-locus, het embryo niet levensvatbaar was. Het was dan niet mogelijk voor het embryo om twee van de drie kiembladen te vormen.

De structuur van Notch werd in kaart gebracht door Artavanis-Tsakonas (1983). Hij ontdekte dat Notch een intracellulair domein (NICD) en een extracellulair domein heeft. Binding van Notch met een ligand zorgt ervoor dat deze delen slijten. Het NICD beïnvloedt vervolgens de transcriptie in de cel. Naast het vaststellen van de structuur van Notch bracht hij ook de structuur van verschillende liganden in kaart gebracht. Delta was in 1887 de eerste ligand die volledig in beeld was gebracht.

Ellison (1991) ontdekte dat de Notch signalering die bij de *D. melanogaster* plaatsvond ook bij de mens een rol speelt. Het speelt onder andere een rol bij de regulering van angiogenese, de vorming van nieuwe bloedvaten in het lichaam. Tegenwoordig is bekend dat Notch signalering een rol speelt in bijna alle zoogdieren en het onderzoek gaat nog steeds door. Geregeld zijn er klinische proeven waarbij Notch signalering wordt gebruikt voor therapie [1].

## 1.2 Transactivatie model van Notch en Delta

Hoewel Notch met verscheidene liganden een binding kan aangaan, wordt er in deze scriptie gefocust op de binding met de ligand Delta. Omdat Notch een in het celmembraan gelegen receptor is, kan het alleen een binding aangaan met Delta in aangrenzende cellen. Belangrijk is ook de inhiberende werking van Notch, een cel met een hoge Notch concentratie inhibeert de Notch concentratie in aangrenzende cellen. Collier et al. (1996) stelden een wiskundig model voor

van de interactie tussen Notch en Delta. Ze lieten zien hoe deze konden leiden tot differentiatie van cellen. De aannames van dit model zijn:

1. De productie van Notch in een cel is een stijgende functie van de hoeveelheid Delta in aangrenzende cellen.
2. De productie van Delta in een cel is een dalende functie van de hoeveelheid Notch in de cel.
3. De specialisatie van een cel hangt af van de hoeveelheid Notch in die cel; een hoge concentratie geeft een andere specialisatie dan een lage concentratie.

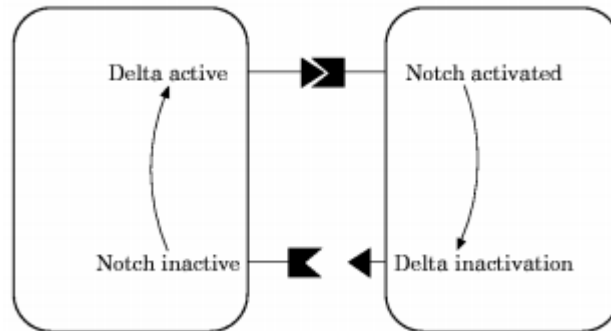
De aannames zijn gebaseerd op resultaten uit andere onderzoeken. Uit deze onderzoeken bleek de concentratie Notch te stijgen als de hoeveelheid Delta in aangrenzende cellen hoger is. Bovendien bleek ook dat de aanwezigheid van Delta lager is in een cel als de concentratie Notch groter is.

Gebaseerd op de aannames werd een systeem opgesteld. Dit systeem bestaat uit vergelijkingen (1) en (2). Hierin is  $N_i, D_i$  de concentratie Notch, respectievelijk Delta, in cel  $i$ .  $\langle D_j \rangle_i$  is de gemiddelde concentratie Delta in de buurcellen  $j$  van  $i$ .  $f$  is een stijgende functie en  $g$  dalend, overeenkomstig met de aannames.

$$\frac{dN_i}{dt} = f(\langle D_j \rangle_i) - N_i, \quad (1)$$

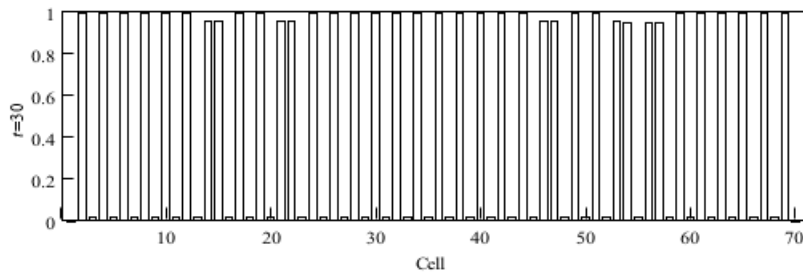
$$\frac{dD_i}{dt} = g(N_i) - D_i \quad (2)$$

In figuur 1 is dit model schematisch weergegeven. Het model beschrijft een sys-



Figuur 1: Schematische weergave van het model van Collier et al. [3]

teem waarin, in een rij cellen, een alternerend patroon ontstaat als de interactie tussen beide cellen groot genoeg is. Dit is het gevolg van de laterale inhibitie. Hierbij heeft cel A een hoge Notch concentratie en inhibeert de Notch concentratie van al zijn buurcellen. Deze hebben daardoor allemaal een lage Notch concentratie en dus een hoge Delta concentratie. Deze eindtoestand van het systeem staat weergegeven in figuur 2.



Figuur 2: Alternerende concentratie Notch in eindtoestand van het systeem. [3]

### 1.3 Cis-inhibitie model van Notch en Delta

Toen het model van Collier werd gemaakt, was alleen bekend dat Notch en Delta van verschillende cellen met elkaar een binding aan konden gaan. Inmiddels is bekend dat ook Notch en Delta van dezelfde cel een binding met elkaar aan kunnen gaan.[4] Deze zogenoemde cis-inhibitie zorgt voor een verandering van het proces zoals door Collier beschreven. In vergelijkingen (3) wordt de reactievergelijking van cis-inhibitie gegeven. Hierin zijn  $N_i$  en  $D_i$  de concentratie Notch, respectievelijk Delta, in de cel.



Het tweede model is het model van Sprinzak et al. (2010, [4]). In dit model wordt naast de transactivatie ook gekeken naar de invloed van cis-inhibitie bij de interactie tussen Notch en Delta. Ook wordt een onderscheid gemaakt tussen het extracellulair en het intracellulair domein (NICD) van Notch. Wanneer er over Notch wordt gesproken, wordt vanaf nu altijd het extracellulair domein van Notch bedoeld.

De differentiaalvergelijkingen van dit model maken gebruik van de wet der massawerking. Deze wet gaat uit van een homogene oplossing waarin alle deeltjes vrij kunnen bewegen. De affiniteit van een bepaalde reactie kan dan worden beschreven als het product van de concentraties van alle deeltjes in deze reactie vermenigvuldigd met een constante. Hoe hoger de concentratie van een deeltje in een vergelijking is, hoe groter de snelheid waarmee deze reactie plaatsvindt.

In het model van Sprinzak et al. wordt gekeken naar het gedrag van een rij of rooster van cellen. Een buurcel betekent dat er een aangrenzend vlak is tussen twee cellen.  $N_i, D_i, R_i$  staan voor respectievelijk de concentratie Notch, Delta en NICD in cel  $i$ .  $\langle X_j \rangle_i$  staat voor de gemiddelde concentratie  $X$  in de buurcellen  $j$  van  $i$ . Anders dan in het model van Collier wordt er in dit model uitgegaan van een constante productie  $\beta_N$  van Notch. Er geldt dat de productie van Delta omgekeerd evenredig is met concentratie van NICD in een cel.

De  $\tau$  staat voor de verschillende snelheden waarmee de reacties plaatsvinden.  $k_c$  is de cis-constante.  $p, k$  zijn constanten die ervoor zorgen dat de uniforme oplossing niet stabiel is. Als deze waarden te klein zijn, is de interactie tussen de cellen te klein en blijft het systeem in een uniforme oplossing. Het model is

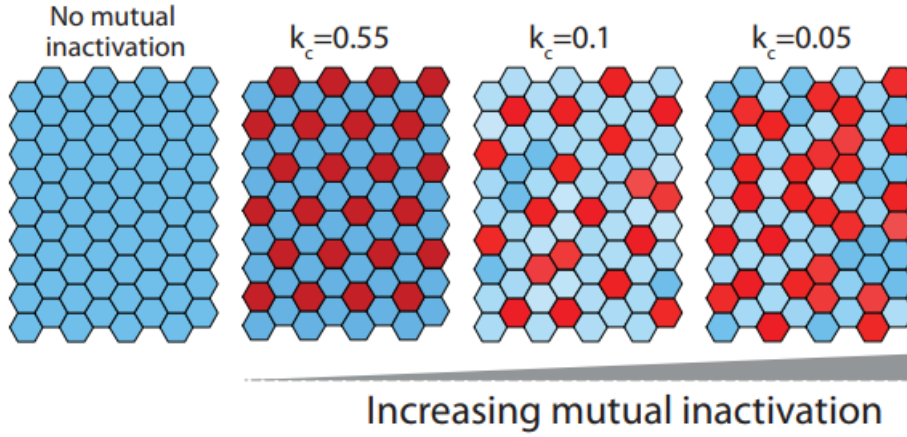
als volgt gegeven:

$$\tau \frac{dN_i}{dt} = \beta_N - N_i - N_i \langle D_j \rangle_i - N_i \frac{D_i}{k_c}, \quad (4)$$

$$\tau \frac{D_i}{dt} = \beta_D \frac{1}{1 + R_i^m} - D_i - D_i \langle N_j \rangle_i - N_i \frac{D_i}{k_c}, \quad (5)$$

$$\frac{dR_i}{dt} = \beta_R \frac{(N_i \langle D_j \rangle_i)^p}{k_{RS}^p + (N_i \langle D_j \rangle_i)^p} - R_i \quad (6)$$

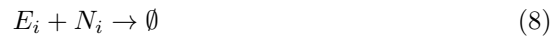
Net als bij Collier et al. (1996) ontstaat ook in dit model een alternerend patroon op een zeshoekig rooster (figuur 3). Dit is echter alleen het geval als de cis-constante niet te groot is. Als dit wel het geval is, dan ontstaat er geen enkel patroon. Alle cellen houden dan een hoge concentratie. Bij een te lage cis-constante is het patroon niet meer consistent, er zijn dan verschillende mogelijkheden



Figuur 3: Vorming van patronen op zeshoekig rooster bij verschillende cis-constanten (Blauw: Notch, Rood: Delta). [4]

## 1.4 Doel

Uit onderzoek van Baker en zijn groep is naar voren gekomen dat bij de binding die plaatsvindt bij cis-inhibitie twee Delta proteïne en één Notch proteïne bij betrokken zijn. Het is tot nog toe onbekend in welke volgorde deze binding plaatsvindt. De ene mogelijkheid is dat twee of meer Delta-proteïnen eerst een binding aangaan, waarna deze kunnen binden aan een cel-eigen Notch proteïne. Dit is schematisch weergegeven in vergelijkingen (7) en (8):



De andere mogelijkheid is dat alle proteïne tegelijkertijd met elkaar een binding aangaan. Dit geval wordt schematisch weergegeven in vergelijking (9):



Het hoofddoel van deze scriptie is om de invloed van beide opties te kwantificeren. Dit om een antwoord te kunnen geven op de hoofdvraag: 'Wat is de invloed van di-cis-inhibitie op de signalering tussen Notch en Delta'.

Deze vraag is relevant omdat Notch-Delta signalering een essentiële rol speelt in de ontwikkeling van de mens. Een juist inzicht in de werking van dit proces kan dus een grote impact hebben.

Om antwoord te geven op de hoofdvraag worden er differentiaalvergelijkingen opgesteld met de varianten van di-cis-inhibitie en de oude cis-inhibitie. Deze vergelijkingen vormen samen verschillende modellen, die zullen worden gebruikt om het gedrag en de verschillen hiertussen te kwantificeren. Dit zal worden gedaan middels de Cash-Karp Runge-Kutta methode in C++. De invloed van deze modellen zal worden bekeken op een rij cellen.



## 2 Modelbeschrijving

Om een goed beeld te kunnen geven van de invloed van de veranderde cis-inhibitie op de manier waarop cis-inhibitie een rol speelt in de communicatie tussen cellen zijn er nieuwe modellen gemaakt, waarvan de resultaten worden vergeleken met de modellen van Sprinzak et al. (2010) en Collier et al. (1996).

Voor dit onderzoek is als uitgangspositie het model van Collier (1996) genomen. De basis van dit model is vervolgens stapsgewijs uitgebreid om een nauwkeuriger beeld te geven van de processen die spelen bij Notch-Delta interactie.

### 2.1 Collier et al. (1996)

In het vorige hoofdstuk is het Collier-model al uitgebreid besproken. Dit model werd met de volgende vergelijkingen omschreven:

$$\frac{dN_i}{dt} = f(\langle D_j \rangle_i) - N_i, \quad (10)$$

$$\frac{dD_i}{dt} = g(N_i) - D_i. \quad (11)$$

Hierin is gekozen voor een stijgende functie  $f$  en een dalende functie  $g$  waarbij

$$f(x) = \frac{x^2}{0.01 + x^2}, \quad (12)$$

$$g(x) = \frac{1}{1 + 100x^2}. \quad (13)$$

### 2.2 Mono-cis-inhibitie

Om de rol van cis-inhibitie te modelleren is gekozen om een extra term,  $-\alpha N_i D_i$ , toe te voegen aan beide vergelijkingen. Deze  $\alpha$  kan worden gevarieerd afhankelijk van hoe sterk de cis-inhibitie is. Hoe hoger de cis-inhibitie hoe meer Notch en Delta van de cel met elkaar wegreageren.

Net zoals in het model van Sprinzak is gekozen voor  $N_i D_i$  op basis van de wet der massawerking. Dit geeft het volgende model:

$$\frac{dN_i}{dt} = f(\langle D_j \rangle_i) - N_i - \alpha N_i D_i \frac{dD_i}{dt} = g(N_i) - D_i - \alpha N_i D_i \quad (14)$$

### 2.3 Mono-cis-inhibitie met NICD

De volgende stap die gemaakt is in het uitbreiden van het model, is gedaan door onderscheid te maken tussen intracellulair- en extracellulair Notch. Het is bekend dat als Notch en Delta van twee cellen met elkaar een binding aangaan, het NICD loslaat en zorgt voor het inhiberen van de Delta-productie in die cel. [4]

In het model is aangenomen dat het NICD,  $A_i$  een andere reactietijd heeft dan dat van membraangebonden Notch en Delta. Om deze reden is er een tijdsfactor  $\tau$  toegevoegd aan deze vergelijking. Vergelijkingen (15), (16) en (17)

beschrijven ons systeem.

$$\frac{dN_i}{dt} = f(\langle D_j \rangle_i) - N_i - \alpha N_i D_i, \quad (15)$$

$$\frac{dD_i}{dt} = g(A_i) - D_i - \alpha N_i D_i, \quad (16)$$

$$\tau \frac{dA_i}{dt} = \beta N_i D_j - \gamma_A A_i. \quad (17)$$

## 2.4 Di-cis-inhibitie met NICD

Omdat uit het onderzoek van de groep Baker is gebleken dat cis-inhibitie anders werkt dan hiervoor is aangenomen, is deze term aangepast in het uiteindelijke model. Omdat er twee opties zijn, zijn er twee verschillende modellen gebruikt. Merk op dat in beide modellen nog steeds gebruik wordt gemaakt van de wet der massawerking. Hierdoor komen er kwadratische termen in onze vergelijkingen. De snelheid waarmee twee Delta eiwitten elkaar tegenkomen is namelijk evenredig met  $D_i^2$ .

### 2.4.1 Met vorming van dimeren

In het geval dat beide Delta proteïnen eerst een binding aangaan, wordt de concentratie van deze dimeer  $E_i$  meegenomen in het model door middel van een nieuwe vergelijking. Omdat deze verbinding ook verbroken kan worden volgt nu het volgende model:

$$\frac{dN_i}{dt} = f(\langle D_j \rangle_i) - N_i - \alpha N_i E_i \quad (18)$$

$$\frac{dD_i}{dt} = g(A_i) - D_i - 2\mu D_i^2 + 2\delta E_i \quad (19)$$

$$\frac{dE_i}{dt} = \mu D_i^2 - \alpha N_i E_i - \delta E_i - \gamma_E E_i \quad (20)$$

$$\tau \frac{dA_i}{dt} = \beta N_i D_j - \gamma_A A_i \quad (21)$$

### 2.4.2 Geen vorming van dimeren

In het geval dat alle proteïnen tegelijkertijd een binding aangaan, is het niet nodig om het model veel uit te breiden. Het enige wat nu verandert is het deel van de cis-inhibitie. Implementatie geeft het volgende model:

$$\frac{dN_i}{dt} = f(\langle D_j \rangle_i) - N_i - \alpha N_i D_i^2, \quad (22)$$

$$\frac{dD_i}{dt} = g(A_i) - D_i - 2\alpha N_i D_i^2, \quad (23)$$

$$\tau \frac{dA_i}{dt} = \beta N_i D_j - \gamma_A A_i. \quad (24)$$

Merk op dat het niet mogelijk is hetzelfde model te verkrijgen door substitutie van  $\frac{dE_i}{dt} = 0$  in het model met vorming van dimeren. Dit geeft een ander resultaat doordat er in dat geval nog steeds een deel van de Delta zich in dimeervorm aanwezig is, en dus niet kan deelnemen aan transactivatie.

### 3 Resultaten

Om te kijken wat de invloed is van de veranderde cis-inhibitie op de modellen, wordt voor verschillende parameters gekeken naar het gedrag en hoe dit verandert als de parameters worden gevarieerd. Per variatie van een specifieke parameter zullen we verschillende modellen bekijken.

Het eerste model dat wordt onderzocht is het model van Collier waarin cis-inhibitie en het NICD zijn geïmplementeerd zoals hiervoor beschreven. Dit model geeft dus weer hoe het systeem zich volgens de mono-cis-inhibitie gedraagt.

Vervolgens zal nog gekeken worden naar twee andere modellen waarbij er sprake is van di-cis-inhibitie. Hierbij bekijken we twee varianten, namelijk een model met en een model zonder de vorming van Delta-dimeren.

Deze modellen zijn toegepast op een rij cellen. Om de invloed van randvoorwaarden zo klein mogelijk te maken, zal voor het gedrag van de cellen altijd gekeken worden naar dezelfde twee cellen in het midden van deze rij. De parameters die gebruikt zijn bij de resultaten kunnen gevonden worden in bijlage A.

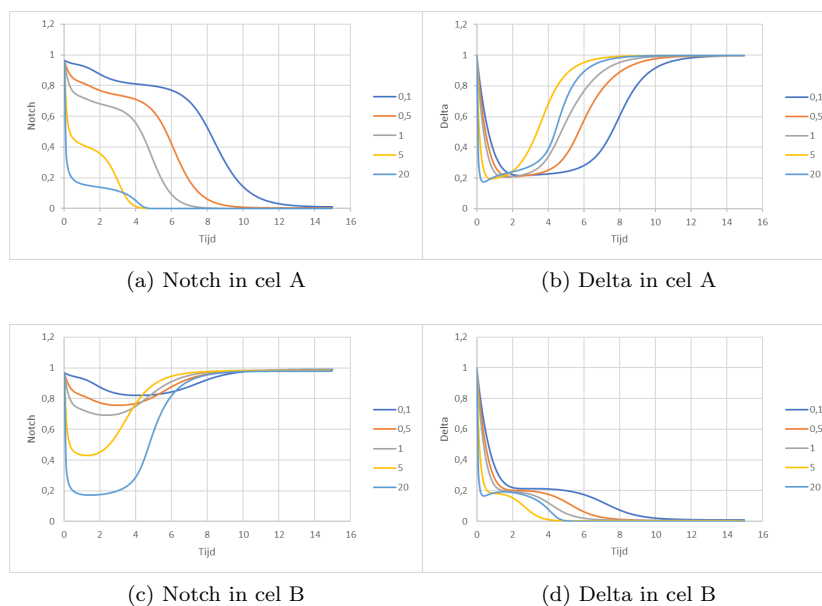
#### 3.1 Invloed van cis-inhibitie

De invloed van cis-inhibitie bepaald hoeveel van de totale hoeveelheid Notch en Delta uit het systeem verdwijnt door de cis-inhibitie. Deze hoeveelheid kan beïnvloed worden door de parameter  $\alpha$  te vergroten en te verkleinen. Hierdoor verandert het gedrag van de modellen. Hoe groter deze parameter is, hoe groter de invloed van cis-inhibitie op het gedrag van de vergelijkingen. Deze parameter komt terug in het deel met  $-\alpha N_i D_i^{(2)}$ .

##### 3.1.1 Model met mono-cis-inhibitie

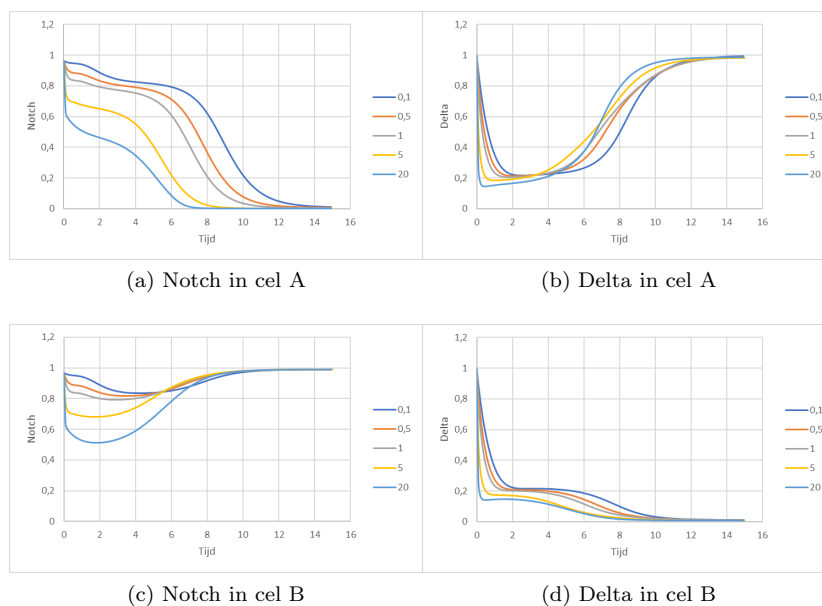
Uit figuur 4 kunnen de volgende observaties kunnen worden gemaakt:

1. Voor alle verschillende cis-constanten  $\alpha$  convergeert het systeem naar dezelfde eindtoestand. De snelheid waarmee deze toestand wordt bereikt neemt toe naarmate  $\alpha$  groter wordt.
2. Hoe groter de cis-constante  $\alpha$  is, hoe meer de concentratie van zowel het Notch- als Delta- proteïne in het begin in de cel daalt. Bovendien wordt de eindtoestand voor de hoeveelheid Notch eerder bereikt voor relatief grotere waarden van  $\alpha$ .



Figuur 4: Invloed van cis-inhibitie constante  $\alpha$  op het systeem met mono-cis-inhibitie. (Vergelijkingen 15, 16 en 17)

### 3.1.2 Model met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren

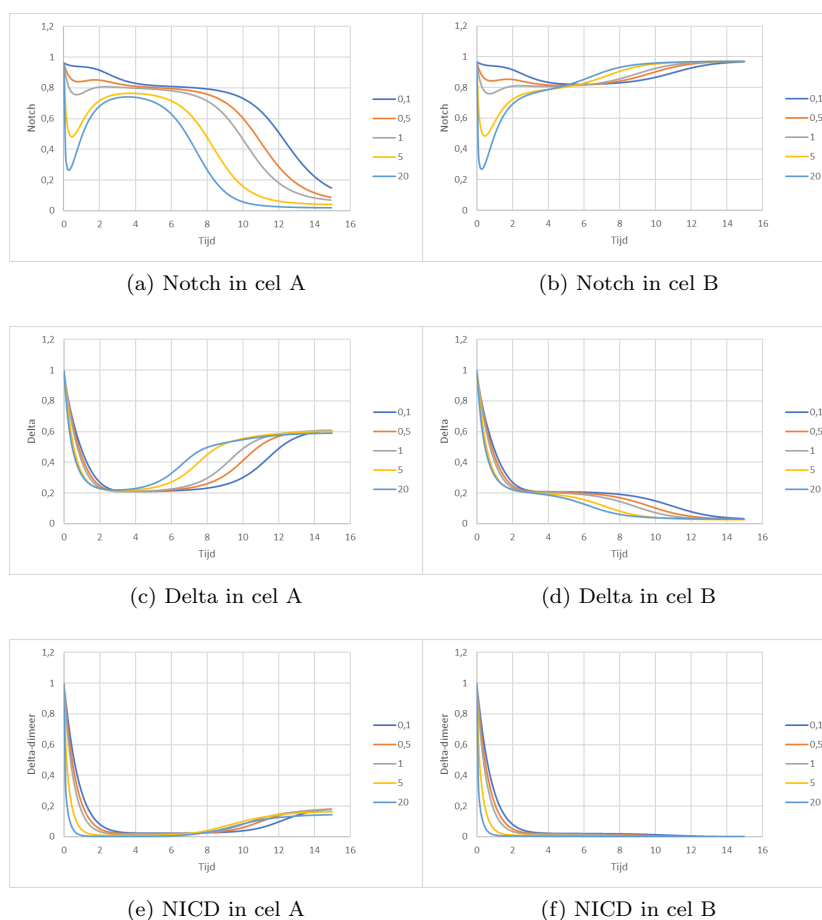


Figuur 5: Invloed van cis-inhibitie constante  $\alpha$  op het systeem met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren. (Vergelijkingen 22, 23 en 24)

Dit leidt tot de volgende observaties in figuur 5:

1. Voor alle waarden van  $\alpha$  is het verloop van de concentratie van Notch en Delta in alle cellen ongeveer gelijk. De invloed van  $\alpha$  is dus laag.
2. De eindtoestand is hetzelfde voor alle cis-inhibitie constanten  $\alpha$ .
3. De concentratie van Notch proteïne neemt sneller af, naarmate er meer cis-inhibitie is.

### 3.1.3 Model met di-cis-inhibitie met vorming van dimeren



Figuur 6: Invloed van cis-inhibitie constante  $\alpha$  op het systeem met di-cis-inhibitie met vorming van dimeren. (Vergelijkingen 18 t/m 21)

Wat opvalt in figuur 6 is dat de invloed van de cis-inhibitie constante  $\alpha$  minimaal is. Dit geeft de volgende observatie:

1. Voor alle waarden van  $\alpha$  is het verloop van de concentratie van Notch en Delta in de cel ongeveer gelijk. De eindtoestand van het systeem wordt

voor alle  $\alpha$  rond dezelfde tijd bereikt. Deze toestand wordt later bereikt dan in het oorspronkelijke model.

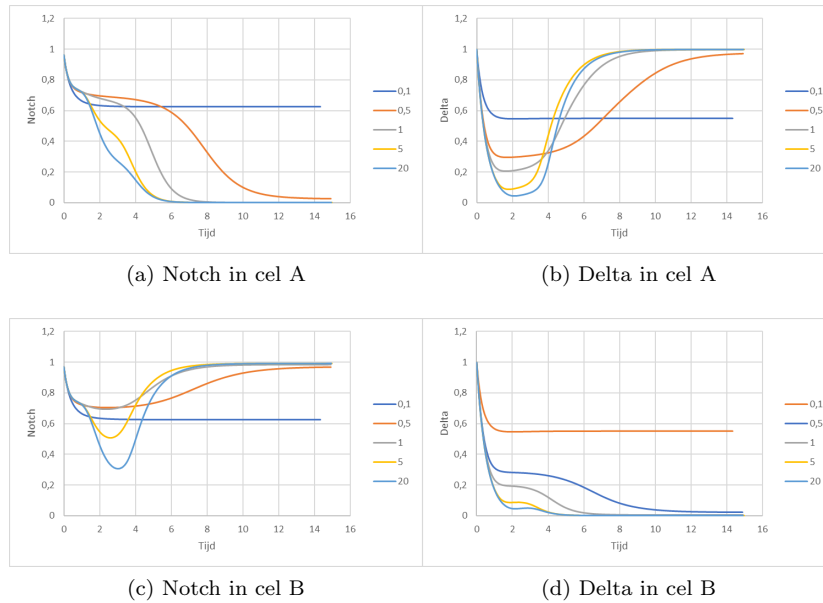
### 3.2 Invloed transactivatie

Wanneer de Notch proteïne een binding aangaat met een Delta ligand van een andere cel, wordt het Notch proteïne gespleten. Het NICD beïnvloedt vervolgens de transcriptie in de cel. Hierdoor wordt de productie van Delta in die cel verminderd. Om de invloed hiervan, en de mate waarin deze rol van belang is, wordt deze rol bekeken voor verschillende groottes van de transactivatie constante  $\beta$ . Deze  $\beta$  speelt een rol in de vergelijkingen voor de concentratie NICD:

$$\tau \frac{dA_i}{dt} = \beta N_i D_j - \gamma_A A_i. \quad (25)$$

Er geldt dat als  $\beta$  groter wordt, het NICD sneller toeneemt. En dus dat er meer transactivatie plaatsvindt.

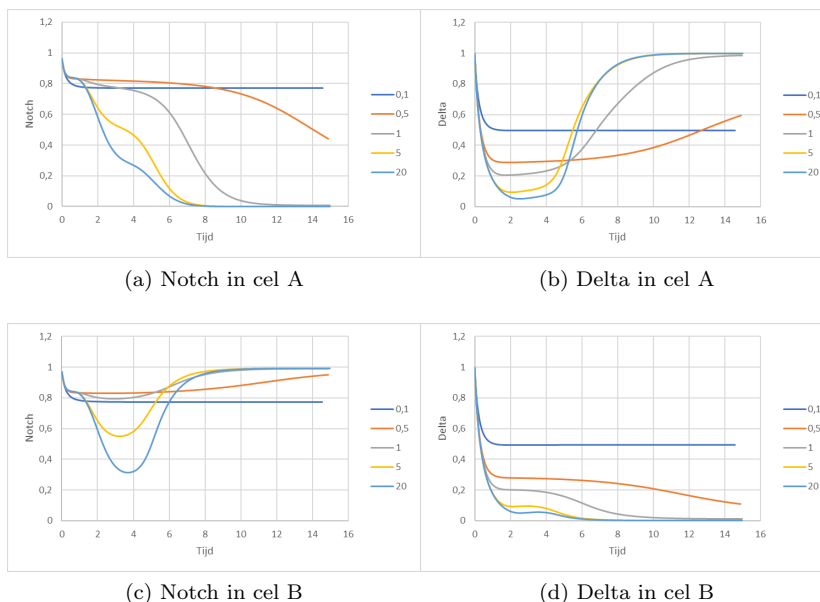
#### 3.2.1 Model met mono-cis-inhibitie



Figuur 7: Invloed van transactivatie constante  $\beta$  op het systeem met mono-cis-inhibitie. (Vergelijkingen 15, 16 en 17)

Het eerste wat opvalt in figuur 7 is dat als de transactivatie constante  $\beta$  kleiner wordt, het systeem steeds langzamer naar de alternerende oplossing convergeert. Als  $\beta$  te klein is, wordt de uniforme oplossing helemaal niet meer verlaten. Voor grotere waarden van  $\beta$  gedraagt het systeem zich ongeveer hetzelfde.

### 3.2.2 Model met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren



Figuur 8: Invloed van transactivatie constante  $\beta$  op het systeem met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren. (Vergelijkingen 22, 23 en 24)

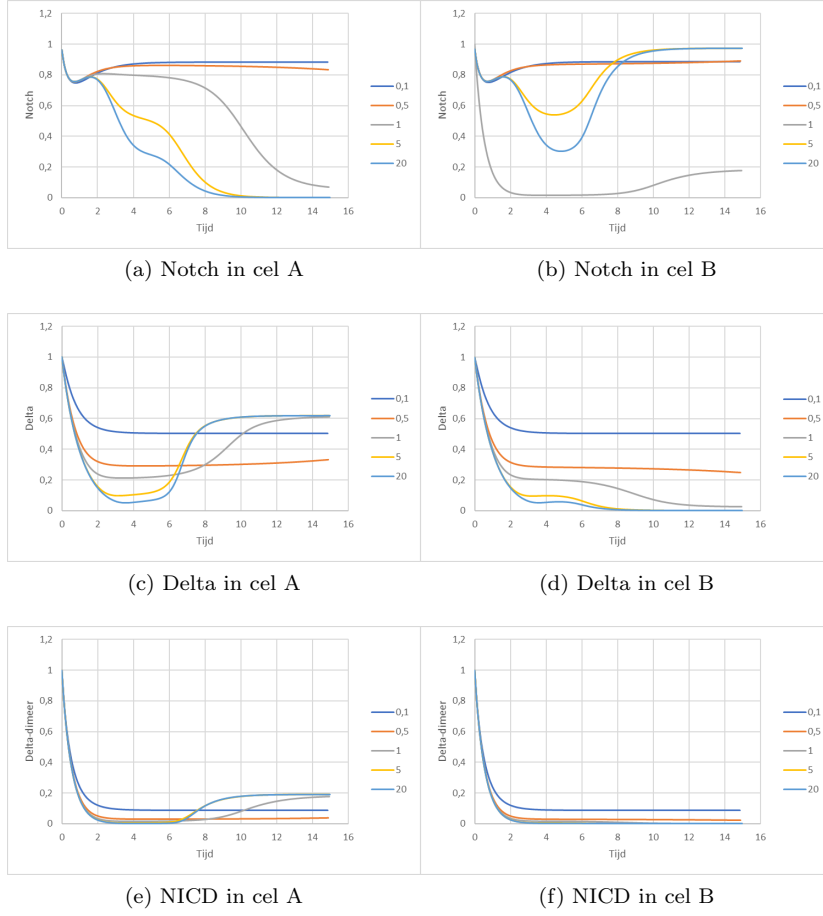
Het valt op dat figuur 7 en 8 bijna hetzelfde zijn. Er geldt dat:

1. Als de transactivatie constante niet klein genoeg is, ontstaat er geen eindtoestand waarin cellen een hoge concentratie Delta of Notch proteïne hebben. De interactie tussen cellen is dan niet groot genoeg om uit de homogene toestand te komen.
2. Bij dezelfde parameters is het verloop van zowel de Notch als Delta proteïne concentratie ongeveer hetzelfde als in het originele model bij een hogere transactivatie constante. Bij lage constanten verloopt het proces een stuk langzamer dan in het originele model.

### 3.2.3 Model met di-cis-inhibitie zonder vorming van dimeren

Als we het gedrag van het model met vorming van dimeren bekijken en de invloed van de transactivatie constante  $\beta$  hierop, (figuur 9) dan vallen er twee dingen op:

1. Het systeem gaat niet snel uit de uniforme oplossing weggaat.  $\beta$  moet een stuk groter zijn dan in de andere modellen.
2. Als  $\beta$  groot is, wordt de productie van de Delta ligand in een cel met hoge concentratie Notch proteïne dusdanig geremd dat de productie van de Notch proteïne in de cel zelf ook wordt gereduceerd. Dit is te zien aan de twee dalen in de parabool (figuur 9B,D).



Figuur 9: Invloed van transactivatie constante  $\beta$  op het systeem met di-cis-inhibitie met vorming van dimeren. (Vergelijkingen 18 t/m 21)

### 3.3 Invloed balans dimeer

De binding waarbij twee Delta liganden samen één dimeer vormen, is een proces dat ook weer ongedaan kan worden gemaakt. Afhankelijk van waar de balans ligt in dit proces, zijn meer Delta liganden ongebonden of juist vaker gebonden als dimeer. Om de invloed van dit proces te bekijken, worden verschillende waarden voor  $\delta$  en  $\mu$  bekeken. Hierbij wordt altijd voldaan aan de volgende gelijkheid:  $\mu\delta = 1$ .

We bekijken verschillende waarden voor  $\mu$  en  $\delta$  waarbij we de verhoudingen altijd weergeven als  $\mu : \delta$ . Merk op dat we deze parameters terugvinden in de volgende vergelijkingen

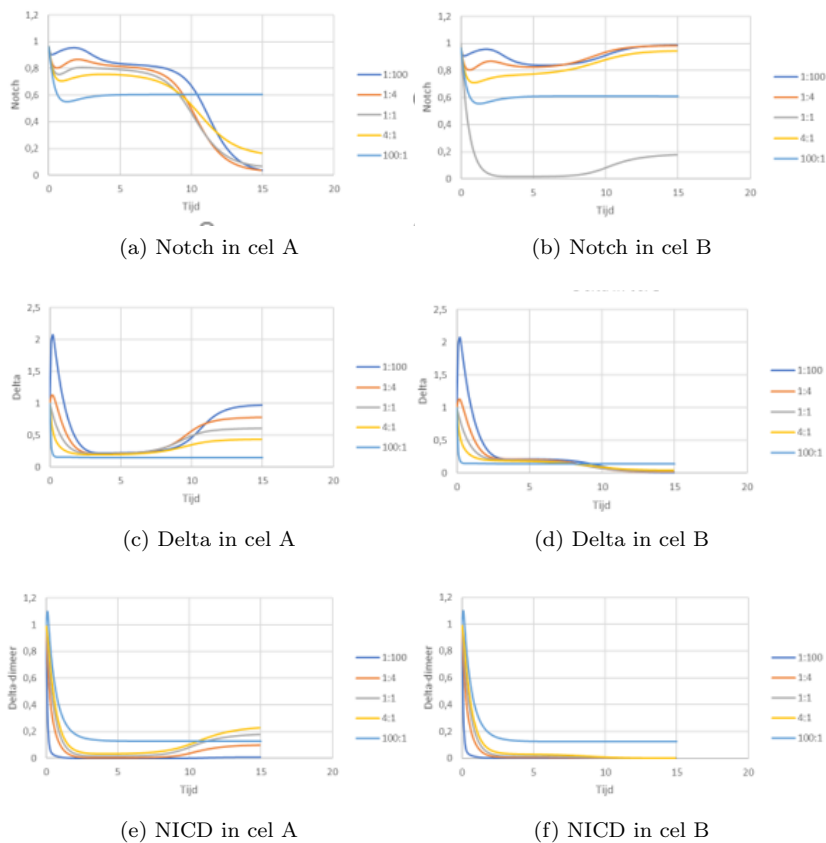
$$\frac{dD_i}{dt} = g(A_i) - D_i - 2\mu D_i^2 + 2\delta E_i \quad (26)$$

$$\frac{dE_i}{dt} = \mu D_i^2 - \alpha N_i E_i - \delta E_i - \gamma_E E_i \quad (27)$$

Er geldt dat als  $\mu$  groter wordt, er meer Delta in dimeervorm aanwezig zal



zijn. Terwijl als  $\delta$  groter wordt, Delta juist meer in mono-vorm zal worden aangetroffen.



Figuur 10: Invloed van balans dimeer op het systeem met di-cis-inhibitie met vorming van dimeren. (Vergelijkingen 18 t/m 21)

Figuur 10 laat zien dat de invloed van de balans niet groot is. De oplossing verandert alleen significant als er wordt gekeken naar extreme gevallen:

1. Als  $\mu \gg \delta$ , dan blijft het systeem in een homogene toestand. Al het Delta wordt dan meteen omgezet naar dimeren, en er is dus geen sprake meer van transactivatie. Het enige proces wat nog plaatsvindt is cis-inhibitie.
2. Als  $\delta \gg \mu$  dan gedraagt het systeem nog gewoon hetzelfde als geen limiet gevallen.

## 4 Conclusie

Hoewel het gedrag van de verschillende modellen veel overeenkomsten toont, zijn er ook duidelijke verschillen. Hieronder bekijken we per parameter het verschil in gedrag.

### 4.1 Invloed van cis-inhibitie

In alle modellen valt op dat wanneer de sterkte van de cis-inhibitie constante  $\alpha$  varieert, alle modellen nog steeds naar dezelfde alternerende eindoplossing convergeren. Bij de systemen met di-cis-inhibitie verschilt de manier waarop naar deze eindoplossing wordt gegaan weinig bij verschillende waarden van  $\alpha$ , terwijl bij mono-cis-inhibitie de Notch concentratie hier wel door beïnvloed wordt.

Er kan worden geconcludeerd dat di-cis-inhibitie de invloed van cis-inhibitie beperkt. Het is een middel om de transactivatie tussen cellen te reguleren, zonder hierbij de mogelijkheid tot differentiatie van cellen weg te nemen. Di-cis-inhibitie zorgt er dus voor dat het systeem minder afhankelijk is van de mate van cis-inhibitie. Omdat in vivo cis-inhibitie niet een constant maar een op kans gebaseerd proces is, zorgt het minder afhankelijk zijn van het deze kans voor een constanter systeem. En dus voor een betrouwbaarder systeem.

### 4.2 Invloed transactivatie

Uit de resultaten valt op dat de invloed van transactivatie op het gedrag van het systeem groot is, maar ook dat dit gedrag niet verschillend is in de verschillende modellen. Als de transactivatieconstante  $\beta$  te klein is, kan het systeem niet uit de homogene situatie komen. En hoe groter de constante en dus de invloed van transactivatie wordt, hoe sneller en makkelijker het systeem zich naar een alternerende eindtoestand convergeert.

### 4.3 Balans dimeer

Als laatste is gekeken naar wat invloed van de balans in de aanwezigheid van dimeren en losse Delta proteïnen. Het eerste wat hierin opvalt is dat als  $\mu \gg \delta$ , en dus bijna al het Delta in dimeer vorm in het systeem zit, het systeem dan in de uniforme toestand blijft. Er ontstaat dan dus geen alternerende toestand van Notch en Delta. Dit is te verklaren doordat er in deze situatie geen los Delta meer voorkomt op het celmembraan. En dan kan er dus geen transactivatie plaatsvinden. Dit is dus dezelfde situatie als waarin de transactivatieconstante  $\beta$  te klein is.

Als de balans meer naar het losse Delta gaat, kunnen we de situatie ook vergelijken met een toename in de transactivatieconstante. Er komt namelijk meer los Delta beschikbaar, waardoor de interactie met naburige cellen zwakker wordt. De cis-inhibitie wordt daarentegen zwakker, maar dit heeft zoals al eerder omschreven weinig invloed op het gedrag van het systeem. Een belangrijke observatie is dat de balans tussen Delta di- en monomeer dus het gedrag voor het hele systeem bepaald. Door middel van variatie van deze balans kan het hele systeem worden beschreven.

#### 4.4 Samenvatting

In vergelijking met mono-cis-inhibitie geldt dat bij di-cis-inhibitie de variatie bij verandering van invloeden kleiner is. Dit onder meer van belang in vivo. Hier zijn de parameters continu aan het veranderen, onder meer door het door kansen gegeven model van bindingen en reacties. Met di-cis-inhibitie worden de gevolgen hiervan sterk gereduceerd. We kunnen dus concluderen dat, nog meer dan mono-cis-inhibitie, di-cis-inhibitie een regulerende werking heeft op de specialisatie van cellen.

## 5 Discussie

Bij het model van het model zijn een aantal aannames gemaakt. Hoewel deze aannames een versimpeling van de werkelijkheid zijn, zijn de gevolgen voor de resultaten van de modellen beperkt. We zullen deze aannames hier bespreken.

### 5.1 Wet der Massawerking

In het model is gebruik gemaakt van een kans dat proteïnen elkaar tegenkomen. Proteïnen zijn willekeurig verdeeld over het celmembraan. Hier kunnen ze niet uit en er is weinig ruimte om te verplaatsen. De aanname die in het model is dat de hoeveelheid van de proteïne gegeven is als een concentratie, en dat deze proteïne zich vrij door de hele ruimte kan bewegen. De kans dat twee proteïne elkaar tegenkomen kan dan beschreven worden als het product van de concentraties van beide. Deze aanname wordt vaak gebruikt om soortgelijke modellen te maken.

Hoewel dit een versimpeling is van de werkelijkheid, is deze kans wel een goede parameter. De proteïnen zijn namelijk nog steeds semi-willekeurig verspreid. Bovendien is net zoals bij echte cellen de kans dat proteïnen elkaar tegenkomen groter als de concentratie hiervan groter wordt.

### 5.2 Gebruikte parameters

De parameters die in deze scriptie zijn gebruikt, zijn niet allemaal gevonden in vivo. De parameters die voor transactivatie worden gebruikt komen uit de paper van Collier et al. Hoewel de rest van de parameters dus niet voortgekomen zijn uit onderzoek heeft dit geen grote invloed op de betrouwbaarheid van de resultaten. Door het grote spectrum van parameters die worden bekeken, heeft deze paper alsnog een stevige basis voor de resultaten.

### 5.3 Jagged en verschillende types Notch en Delta

In de paper is aangenomen dat er maar één verschillende soort Notch en Delta proteïne bestaan. In werkelijkheid zijn er verschillende soorten van beide. Door het aanpassen van de parameters kan hier echter voor worden gecompenseerd in het model, hierdoor is de invloed hiervan op de resultaten niet aanwezig.

Een andere binding die niet is meegenomen in het model is de mogelijkheid dat een andere ligand met Notch bindt. In dit geval kan het Notch geen binding meer aangaan met Delta, en wordt het dus uit ons systeem verwijderd. Ook hiervoor kan worden gecompenseerd door het aanpassen van de parameters. [5]

### 5.4 NICD

In het model is de aanname gedaan dat als Notch en Delta van verschillende cellen een binding aangaan, het NICD wat hierbij vrijkomt in de cel meteen een rol speelt in het systeem. Deze invloed gaat dan veel sneller dan de rest van het systeem.

Door deze aanname is de versimpeling gedaan dat NICD niet verandert in de tijd dat Notch en Delta veranderen. Hierdoor kan intern Notch worden gezien

als een parameter afhankelijk van de aanwezige Notch en Delta proteïnen op dat tijdstip.

In vivo is de transcriptietijd van NICD ook een stuk sneller dan de tijd waarin Notch en Delta van verschillende cellen een binding met elkaar aangaan. De aanname die is gedaan is dus redelijk, want beide processen spelen zich af op een andere tijdschaal.

## 5.5 Vervolgonderzoek

Hoewel deze scriptie een duidelijk eerste beeld geeft van de werking van di-cis-inhibitie, zijn op dit moment nog zeker niet alle eigenschappen in kaart gebracht. Om de invloed van di-cis-inhibitie nog beter in beeld te brengen, kunnen er nog verschillende stappen worden gemaakt.

Ten eerste is tot nu toe alleen gekeken naar een rij van cellen. Een vervolgstap zou zijn om dit uit te breiden naar meerdere dimensies en om te kijken naar het gedrag in deze situaties. Dit geeft een realistischer beeld van de daadwerkelijke reacties in vivo.

Een andere stap zou het toevoegen van andere eiwitten aan het systeem kunnen zijn. In dit systeem is de enige ligand waarmee Notch een binding aan kan gaan Delta, maar in het lichaam zijn er meerder liganden die deze binding aan kunnen gaan en hiermee het systeem veranderen.

## Referenties

- [1] J. Wolter. The Notch Signaling Pathway in Embryogenesis. The Embryo Project Encyclopedia , 06-03-2013. Beschikbaar via: <https://embryo.asu.edu/pages/notch-signaling-pathway-embryogenesis>. Laatst geraadpleegd 17-03-2019
- [2] T.H. Morgan. The Theory of the Gene. The American Naturalist. 1917 September; Vol. L1: No. 609.
- [3] J.R. Colier et al. Pattern Formation by Lateral Inhibition with Feedback: a Mathematical Model of Delta-Notch Intercellular Signalling. J. theor. Biol. 1996;183:429-446.
- [4] D. Sprinzak et al. Cis-interactions between Notch and Delta generate mutually exclusive signalling states. Nature. 2010 May 6;465(7294):86-90.
- [5] Jolly, Mohit Kumar, Boareto, Marcelo, Lu, Mingyang, et al.. "Operating principles of Notch?Delta?Jagged module of cell?cell communication." New Journal of Physics, 17, (2015) 55021. <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/17/5/055021>.

## 6 Bijlage A

<b>Figuur</b>	<b>Parameters</b>	<b>Randvoorwaarden</b>
4,5,6	$a = 0.01, b = 100, h = 2, k = 2, \alpha = \{0.1, 0.5, 1, 5, 20\}, \beta = 1, \mu = 1, \delta = 1, \gamma_E = \gamma_A = 1, \tau = 0$	$D_0 = D_N = 0$
7,8,9	$a = 0.01, b = 100, h = 2, k = 2, \alpha = 1, \beta = \{0.1, 0.5, 1, 5, 20\}, \mu = 1, \delta = 1, \gamma_E = \gamma_A = 1, \tau = 0$	$D_0 = D_N = 0$
10,11,12	$a = 0.01, b = 100, h = 2, k = 2, \alpha = 1, \beta = 1, \mu = \frac{1}{2}, \frac{2}{3}, 1, \frac{3}{2}, 2\delta = 1\mu, \gamma_E = \gamma_A = 1, \tau = 0$	$D_0 = D_N = 0$