

VU Research Portal

Mechanics and dynamics of biopolymer networks

Broedersz, C.P.

2011

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Broedersz, C. P. (2011). *Mechanics and dynamics of biopolymer networks*.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

In dit proefschrift presenteren wij een studie naar het collectieve mechanische en dynamische gedrag van biopolymeernetwerken. Hoewel het grootste deel van dit werk gewijd is aan de ontwikkeling van theoretische modellen voor dit soort systemen, presenteren wij enkele experimentele studies en bespreken wij ook uitgebreid een vergelijking tussen onze theoretische voorspellingen en relevante experimentele resultaten. Dit werk maakt deel uit van een vruchtbare samenwerking met meerdere leden van het laboratorium van Dave Weitz op Harvard University.

Het onderwerp van mijn onderzoek is grotendeels geïnspireerd door het cytoskelet van levende eukaryotische cellen. Een van de belangrijkste structurele componenten van dit cytoskelet is actine. Dit eiwit vormt wormachtige vezels van enkele micrometers lang dat een verstrengelde netwerkstructuur vormt met talloze kruisverbindingen. Een grote verscheidenheid aan eiwitten wordt door de cel ingezet om de mechanische eigenschappen van het cytoskelet te reguleren voor diverse vitale processen zoals cel deling, cel beweging en cel vormveranderingen. Deze eiwitten organiseren de netwerkstructuur zoals bijvoorbeeld de nucleërende en afkappende eiwitten, die het polymeriseren van de actine monomeren in actine filamenten (F-actine) reguleren. Ook zijn er kruisverbindingvormende eiwitten die de actine filamenten aan elkaar linken om zo een elastische gel of bundel structuur te vormen, terwijl motoreiwitten een mechanische stress genereren in deze netwerken door te trekken aan de actine filamenten. Hoewel veel belangrijke moleculaire componenten inmiddels zijn geïdentificeerd, is er slechts weinig bekend over het collectieve gedrag van deze componenten en hoe dit leidt tot de mechanische respons van het cytoskelet als geheel. Een belangrijke benadering om de oorsprong van de mechanische respons van de complexe samengestelde structuur van het cytoskelet te achterhalen, is door gebruik te maken van gereconstrueerde *in vitro* F-actine netwerken met gepurificeerde bindende eiwitten. Deze methode maakt het mogelijk om de biochemische samenstelling van het netwerk heel precies te reguleren. Deze systemen vormen een vereenvoudigde module van het cytoskelet en ontlenen zich goed voor een systematische aanpak voor het onderzoeken van de fysische eigenschappen van deze netwerken. Zowel op een theoretisch als op een experimenteel niveau, hebben wij ons in dit proefschrift met name gericht op deze *in vitro* biopolymeernetwerken.

In hoofdstuk 2, hebben wij de dynamica van semiflexibele polymeernetwerken met kortlevende kruisverbindingen (linkers) bestudeerd. De intrinsieke dynamica van veel fysiologische linkereiwitten kan belangrijke implicaties hebben voor cellen, die voor een deel bestaan uit continu hervormende netwerken. Recente experimenten met F-actine netwerken met dynamische linkers hebben aangetoond dat deze systemen een complexe viscoelastische respons hebben. Om dit te beschrijven hebben wij een microscopisch model ontwikkeld voor de netwerkrelaxatie op langere tijdscha-

len die door de dynamica van de kortlevende linkers bepaald wordt. Dit "cross-link governed dynamics"(CGD) model beschrijft de structurele relaxatie die mogelijk gemaakt wordt door het continue formeren en verbreken van kruisverbindingen in het netwerk. We hebben laten zien dat dit model een goede kwantitatieve beschrijving geeft van het complexe viscoelastische gedrag van de actine netwerken met fysiologische linkereiwitten. Tot slot, hebben wij in dit hoofdstuk de gevolgen van grote mechanische stressen op de dynamische eigenschappen van het netwerk besproken. Deze stressen hebben een opmerkelijke invloed op de dynamica van de linkers. De frequentie waarmee kruisverbindingen in het netwerk verbroken worden, neemt af naarmate de stress opgevoerd wordt. Dit is een indicatie dat de stabiliteit van de kruisverbinding toe neemt als er een kracht op uitgeoefend wordt. Op de macroscopische schaal leidt dit ongewone gedrag er toe dat het netwerk zich in toenemende mate als een vaste stof gaat gedragen als er stress op uitgeoefend wordt.

In hoofdstukken 3 en 4, bestuderen we de niet-lineaire elastische eigenschappen van netwerken van stijve polymeren met flexibele linkers. We tonen aan dat de niet-lineaire eigenschappen van F-actine netwerken met de fysiologische linker filamine kan volgen uit het zeer flexibele gedrag van de filamine linkers. We ontwikkelen een kwantitatieve zelf-consistente mean-field model voor de macroscopische niet-lineaire elasticiteit van de netwerken. De netwerken worden beschreven als een verzameling van stijve fibers die verbonden zijn door flexibele linkers met een effectief medium dat op een zelf-consistente wijze de niet-lineaire eigenschappen van het netwerk bezit. Met behulp van dit model tonen wij tevens aan dat het breken van de experimentele netwerken veroorzaakt wordt door het verbreken van de actine-filamine verbindingen.

In hoofdstuk 5, bespreken we verschillende rheologische methoden om de niet-lineaire respons van biopolymeernetwerken te bepalen. Door gebruik te maken van de strain ramp en de differentiële prestress methode, onderzoeken wij de niet-lineaire respons van meerdere systemen, variërend van extracellulaire fibrine gels tot intracellulaire F-actine oplossingen en F-actine netwerken met zowel permanente als fysiologische kortlevende linkers. We hebben een nieuw protocol ontwikkeld om zowel de lineaire als de niet-lineaire mechanische eigenschappen van systemen te onderzoeken die plastisch deformerend of vloeien onder grote aangelegde stressen. In dit protocol wordt de differentiële respons bepaald in de aanwezigheid van een constante stress van variërende grote, afgewisseld met periodes zonder stress. Gedurende dit proces wordt de totale strain en de differentiële respons continu bepaald. Met dit onderzoek hebben we sterke aanwijzingen gevonden dat de differentiële response in het prestress protocol een opmerkelijk ongevoeligheid vertoont voor vloeistofachtige of plastische deformaties. Dit toont aan dat de niet-lineaire response van dit soort biopolymeernetwerken robuust is, zelfs als het netwerk vloeit. Om inzicht in dit gedrag te verkrijgen hebben wij een eenvoudig doch zeer algemeen fenomenologisch model

ontwikkeld dat zowel de niet-lineaire als de vloeistofachtige eigenschappen van het netwerk bevat.

In hoofdstuk 6 bestuderen wij de elasticiteit van wanordelijke fiber netwerken. Dit soort netwerken, die onder andere het cellulaire cytoskelet of de extracellulaire matrix vormen, zijn ondanks hun opmerkelijk lage connectiviteit rigide. Deze mechanische stabiliteit valt ten dele te danken aan de weerstand van de fibers tegen verbuigingen. Wij hebben wanordelijke netwerken onderzocht met variabele connectiviteiten, zowel onder als boven het centrale-kracht isostatische punt. Dit is de minimale connectiviteit waarbij een netwerk van elastische veren mechanische rigiditeit vertoont. Wij laten zien dat dit punt een overgang bepaald tussen elastische regimes die ofwel door filament buiging- of wel filament strek-deformaties gedomineerd worden. Deze overgang wordt gekenmerkt door een atypische afhankelijkheid van de stijfheid van het netwerk op de rek en buig moduli van de fibers. Bij het centrale-kracht isostatische punt—dat veel hoger ligt dan de rigiditeitsdrempel—nemen wij divergerende relatieve deformaties waar met een bijbehorende divergente correlatielengteschaal. Dit impliceert dat op dit punt het systeem zich op de macroscopische schaal niet meer gedraagt als een continuüm elastisch lichaam. Kortom, in dit eenvoudige mechanische systeem nemen wij een opmerkelijk rijke diversiteit aan niet-thermische kritische fenomenen waar.

In hoofdstuk 7, bespreken wij de effecten van kracht genererende motoreiwitten op de mechanische eigenschappen van netwerken van stijve polymeren. Gereconstrueerde *actieve* F-actine netwerken met motoreiwitten vormen een goed modelsysteem voor cellulaire mechanica. Motoreiwitten genereren krachten die het netwerk uit thermisch evenwicht drijven en die de netwerkmechanica sterk beïnvloeden. Om de onderliggende principes die tot dit laatste gedrag leiden boven water te krijgen, hebben we een methode ontwikkeld die gebruik maakt van wanordelijke netwerken die op roosterstructuren geconstrueerd worden, met een connectiviteit van 4 of minder, om de architectuur van biopolymeer netwerken met binaire kruisverbindingen na te bootsten. Hiermee hebben wij aangetoond dat heterogene stressen die door motors gegenereerd worden, leiden tot een sterke verandering in de stijfheid in netwerken die door filament buigdeformaties gedomineerd worden. De motoreiwitten worden gemodelleerd als krachtdipolen die spierachtige contracties teweegbrengen. Deze contracties trekken de zachte deformatie modes uit het systeem en zorgen er zo voor dat de stijfheid van het netwerk sterk toeneemt.

In hoofdstuk 8, onderzoeken wij de oorsprong van de elastische eigenschappen van netwerken van intermediate filamenten (IF). IF netwerken in het cytoplasma en de celkern zijn cruciaal voor de mechanische integriteit van metazoan cellen. Hoewel F-actine en microtubuli uitgebreid onderzocht zijn, is er veel minder bekend over IFs. In het bijzonder is het mechanisme waarmee IF netwerk kruisverbindingen vormen en rigide worden slecht begrepen. In een nauwe samenwerking met de experimentele

HOOFDSTUK 8. SAMENVATTING

groep van Dave Weitz hebben wij aangetoond dat divalente ionen een kruisverbindingssinteractie mogelijk maken tussen de negatief geladen staartdomeinen van IFs. We maken gebruik van een affien model voor de niet-lineaire elastische respons van deze systemen dat zowel het niet-lineaire entropische rekgedrag als de enthalpische strek van de individuele filamenten omvat. Dit model heeft het mogelijk gemaakt om microscopische parameters te bepalen uit het macroscopische rheologische gedrag zoals de Young's modulus en de persistentie lengte van de filamenten en de lengteschaal van kruisverbindingen in het netwerk.