

VU Research Portal

The Cell: Strong, Soft Matter

Mulla, Y.

2019

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Mulla, Y. (2019). *The Cell: Strong, Soft Matter*.

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 je lichaam persen cellen zichzelf continu door gaten van verschillende vormen en grootten. Immuuncellen migreren bijvoorbeeld door de polymeermatrix van je bindweefsel, op jacht naar indringers. Deze extracellulaire matrix is sterk heterogeen en cellulaire migratie vereist voortdurende vormveranderingen. De cel vervormt ook drastisch tijdens celdeling en -differentiatie. Een cel dient overduidelijk vervormbaar te zijn.

Tegelijkertijd heeft een cel mechanisch gezien een stressvol leven. De cel loopt bijvoorbeeld permanent het risico om opgeblazen te worden door de osmotische druk die het gevolg is van de grote concentratie biomoleculen aan de binnenkant van de cel. Verder worden er grote krachten op cellen en hun omringend weefsel uitgeoefend, bijvoorbeeld tijdens de embryonale ontwikkeling of tijdens beweging van je spieren en van kraakbeen in je gewrichten. Daarom moet een cel, behalve vervormbaar, ook sterk zijn.

Materialen zijn normaliter vervormbaar of sterk. Pudding is bijvoorbeeld zo te vervormen, maar je kan het makkelijk met je handen breken en is dus niet sterk. Het tegenovergestelde is waar voor een baksteen, die veel kracht kan weerstaan, maar al bij kleine vervormingen breekt. In tegenstelling tot deze niet-biologische materialen, is een cel zowel vervormbaar als sterk. *Welke materiaalontwerpprincipes stellen een cel in staat om deze schijnbaar tegengestelde eisen te vervullen?* Het beantwoorden van deze vraag zal ons begrip van biologie doen toenemen, bijvoorbeeld van ziektebeelden waarbij de mechanische eigenschappen van de cel zijn aangetast. Verder kunnen de biologische materiaalontwerpprincipes inspiratie geven voor het ontwerp van nieuwe synthetische materialen, zodat we sterke, zachte materialen kunnen maken.

De mechanische eigenschappen van een cel worden bepaald door het cytoskelet, dat bestaat uit biopolymeren en bijbehorende eiwitten, zoals linkers die polymeren verbinden en moleculaire motoren. Wij richten ons op aktine, de meest voorkomende deeleenheid van het cytoskelet. Aktine filamenten vormen de celschors. Deze celschors speelt een belangrijke rol in het dirigeren van celvorm en -mechanica. In de celschors zijn aktinefilamenten gebonden door linkereiwitten, die doorgaans slechts een paar seconden gebonden zijn, waarna ze loslaten en ergens anders binden. Dit ontwerpprincipe van 'vergankelijke linkers' zorgt voor stijfheid op korte tijdschalen, terwijl het viscoelastisch stromen toelaat op tijdschalen langer dan de bindingstijd van de linkers.

Het overkoepelende doel van deze dissertatie is om te begrijpen hoe de aktineschors ervoor zorgt dat cellen zacht doch sterk kunnen zijn. Om de mechanische eigenschappen van aktinenetwerken direct te kunnen bestuderen, zuiveren we aktine samen met aktine-bindende eiwitten op en reconstrueren we de netwerken. We combineren experimenten met theoretisch modeleren, om de leidende principes te ontrafelen die aktine netwerken in staat stellen zowel vervormbaar als sterk te zijn.

In hoofdstuk 2 bekijken we de linkerdynamica in detail door een combinatie van theoretisch modeleren en verschillende experimentele technieken. We ontdekken dat

de stressrelaxatie in aktine netwerken op snellere tijdschalen optreedt dan de linker dynamica. We onthullen de oorzaak van deze discrepantie middels een drie-staten model, waarbij linkers gebonden zijn aan 0, 1 of 2 filamenten. In dit model treedt stressrelaxatie op zodra een dubbelgebonden linker een van de twee filamenten loslaat, terwijl linkerredistributie pas optreedt als beide filamenten zijn losgelaten. Verrassend genoeg vinden we dat de snelheid waarmee een enkel gebonden linker een filament loslaat, meer dan tien keer langzamer is dan wanneer twee filamenten gebonden zijn. We schrijven het versnelde loslaten van een dubbelgebonden linker toe aan de stijfheid van biopolymeren. Deze stijfheid belemmert linkers die gebonden zijn aan twee filamenten, waardoor er spanning ontstaat en linkers sneller loslaten. Dit hoofdstuk geeft kwantitatief inzicht over de linkerdynamica in biopolymeernetwerken.

In hoofdstuk 3 onderzoeken we hoe de linkerdynamica de niet-lineaire mechanische eigenschappen van dynamisch verbonden aktine netwerken beïnvloedt. We vinden onverwacht langzame stressrelaxatie, die vergelijkbaar is met ongeordende systemen dichtbij de glastransitie. We verklaren onze experimentele waarnemingen middels een theoretisch model dat rekening houdt met de vergankelijke aard van de linkers in combinatie met het niet-lineaire kracht-uitrek gedrag van aktine filamenten. Dit hoofdstuk biedt microscopisch mechanisme dat kan verklaren waarom celmechanica de universele dynamica van glazige systemen volgt.

In hoofdstukken 4 & 5 stellen we een theoretisch model voor dat beschrijft hoe vergankelijke netwerken, waaronder aktine netwerken, breken. In hoofdstuk 4 maken we gebruik van een stochastisch model om een verzameling van reversibele bindingen onder druk te bestuderen. We ontdekken een microscopisch mechanisme waarmee scheuren oprijzen uit de niet-lineaire, plaatselijke bonddynamica. We stellen analytische vergelijkingen voor die we numeriek verifiëren, en beschrijven hoe de kritische kraaklengte afhangt van de bonddynamica en de uitgeoefende kracht. In hoofdstuk 5 breiden we dit stochastische model uit en beschouwen we het effect van bondmobiliteit na ontbinden op de kracht van vergankelijke netwerken. We ontdekken dat mobiliteit vergankelijke netwerken verzwakt. Dit is merkwaardig omdat bondmobiliteit vaak voorkomt in biologische, vergankelijke netwerken zoals de aktine schors en in systemen die verantwoordelijk zijn voor celadhesie. We speculeren dat cellen een compromis maken tussen netwerkkracht en de modulariteit en nauwe dynamische controle die mobiele linkers biedt. Deze hoofdstukken onthullen de leidende principes achter de breekbaarheid van vergankelijke netwerken zoals de aktineschors.

In hoofdstuk 6 bestuderen we het effect van 'vangstbindingen' op netwerkkracht. 'Vangstbindingen' zijn bindingen tussen eiwitten waarbij de bindingsduur toeneemt als er een gematigde kracht op uitgeoefend wordt. De bindingsduur neemt toe door middel van verborgen bindingsdomeinen die worden blootgesteld bij kracht. Na volledige blootlegging bij hoge kracht, gedragen vangstbindingen zich zoals normale (slip)bindingen waarbij de bindingsduur monotoon afneemt met kracht. Middels het stochastische model ontwikkeld in hoofdstuk 4 & 5 laten we zien hoe vangstbindingen netwerken opleveren die veel duurzamer zijn dan netwerken verbonden door slipbindingen. Verrassend genoeg ontdekken we dat vangstbindingsnetwerken sterker zijn dan slipbindingsnetwerken zelfs wanneer de individuele bindingen zwakker zijn. We verifiëren onze conclusies experimenteel door een combinatie van experimenten op netwerk- en enkel molecuulniveau.

In deze experimenten vergelijken we aktine gebonden door veldstam α -actinin 4 (die vangstbindingen vormt) of zijn slipbinding tegenhanger, een mutant met een enkele K255E puntmutatie. We schrijven de verbeterde kracht van vangstbindingsnetwerken toe aan een zelf-assemblage mechanisme tegen krachtinhomogeniteit. Dit hoofdstuk toont het belang van vangstbindingen aan in het voorkomen van scheuren in vergankelijke netwerken zoals de aktineschors.

Deze dissertatie geeft nieuwe inzichten over hoe de cel het voor elkaar krijgt sterk en toch vervormbaar te zijn. Het ontwerpprincipes van vergankelijke netwerken staat substantiele vervorming toe op tijdschalen langer dan de typische bindingsduur van linkers. Door fluctuaties in de lokale linkerdichtheid zijn vergankelijke netwerken echter ook gevoelig voor het ontstaan van scheuren waarna het materiaal breekt. Vangstbindingen zelf-assembleren tegen krachtinhomogeniteit en voorkomen daardoor het ontstaan van scheuren. Zelfs als vangstbindingen sneller loslaten dan slipbindingen, zorgen ze voor sterkere netwerken. Deze vangstbindingen vergroten daarmee tegelijkertijd de vervormbaarheid en kracht van vergankelijke netwerken. Wij hebben dit principe ontdekt in aktine netwerken, maar verwachten dat het mechanisme optreedt in elk vergankelijke netwerk dat verbonden is door vangstbindingen. Onze ontdekking van toegenomen kracht en vervormbaarheid suggereert een evolutionaire drijvende kracht achter vangstbindingen. Deze evolutionaire drijvende kracht verklaart mogelijk waarom vangstbindingen wijdverspreid zijn in vergankelijke netwerken in de biologie.

Ons werk is ook relevant vanuit een biomedische invalshoek. De vangstbinding die we bestudeerd hebben, α -actinin 4, is een aktine linker in podocyten. Deze cellen staan onder permanente druk door het bloed dat ze filteren in onze nieren. Waar de vangstbindingen te vinden zijn in gezonde nieren, is bekend dat de K255E mutatie zorgt voor nierfalen (Focale Segmentale Glomerulosclerose 1, afgekort met FSGS1). Opvallend is dat FSGS1 cellen die de slipbindingsmutant tot expressie brengen significant brozer zijn dan gezonde cellen met de vangstbindingen. Het zou interessant zijn om het belang van vangstbindingen te onderzoeken in het voorkomen van breken van cellen en weefsel in de context van FSGS1 en andere ziektes.

Tenslotte biedt deze dissertatie een inspiratiebron voor nieuwe ontwerpprincipes van synthetische materialen. Vergankelijke netwerken zijn niet alleen veelvoorkomend in de biologie, maar worden ook vaak gebruikt om synthetische viscoelastische materialen te maken zoals kolloidale gelen en polyelectrolyten in voedsel en cosmetica. Het nut van deze materialen is echter beperkt doordat er na geringe vervormbaarheid al scheuren ontstaan. In de toekomst zou het interessant zijn om synthetische analogen van vangstbindingen te gebruiken om materialen te maken die, geïnspireerd door de biologie, sterk vervormbaar en toch sterk zijn. Zulke materialen zouden ideaal zijn voor toepassingen in bijvoorbeeld regeneratieve geneeskunde.