

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/56250> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Wel, Casper van der

Title: Lipid mediated colloidal interactions

Date: 2017-10-05

Samenvatting

Ons lichaam is opgebouwd uit vele cellen van een honderdste millimeter groot. Elk van deze cellen is omringd door een membraan van vetmoleculen: de *lipide bilaag*. Het is uitermate belangrijk dat deze dunne laag de celeiwitten en het DNA binnen de cel houdt, terwijl het zaken die het leven bedreigen buiten houdt. Niet alleen de buitenkant van de cel bestaat uit een membraan: ook de verschillende compartimenten in de cel worden omringd door een lipide bilaag. Zie figuur 1.1 op pagina 2 voor een illustratie.

Niet alleen de biologie, maar ook de mechanica van een celmembraan blijkt uniek te zijn. Natuurkundig gezien ligt een celmembraan namelijk in het midden tussen een plastic tas en een zeepbel: aan de ene kant heeft het elastische eigenschappen, maar aan de andere kant is het membraan vloeibaar en kan het zich aan alle vormen aanpassen. In de laatste decennia zijn er verschillende theoretische studies gedaan naar mogelijke gevolgen van deze bijzondere eigenschappen, wat onder andere heeft geleid tot de voorspelling dat membraan-eiwitten het membraan gebruiken om zich in grotere structuren te organiseren. Dit zou een drijvende kracht zijn achter bijvoorbeeld het afsnoeren van kleine transportblaasjes (endocytose, zie figuur 1.2 op pagina 3).

Het is echter nog niet mogelijk gebleken om deze voorspelling experimenteel te toetsen. Een deel van deze uitdaging is dat eiwitten zo klein zijn dat ze niet met een lichtmicroscop van elkaar te onderscheiden zijn. In mijn proefschrift heb ik dit probleem benaderd door in plaats van eiwitten, duizend maal grotere objecten op celmembranen te zetten: plastic deeltjes van een micrometer (0.001 millimeter). Deze zijn goed te bestuderen met een microscoop, terwijl ze klein genoeg zijn om geen zwaartekracht te voelen en de willekeurige bewegingen te vertonen waar eiwitten ook aan onderhevig zijn. Een voorbeeld hiervan is te zien op de omslag van dit proefschrift: hier bewegen twee deeltjes zich willekeurig over het oppervlak van een bolvormig membraan.

De vraag die ik in mijn proefschrift tracht te beantwoorden is: kan een lipide membraan krachten veroorzaken tussen objecten die het membraan lokaal vervormen? Om deze vraag te beantwoorden heb ik microdeeltjes ontwikkeld die zich specifiek en met hoge affiniteit aan membranen met biotine hechten. Dit soort deeltjes zijn ook te koop, echter bevatten deze dan altijd oppervlakte-actieve stoffen (zeep) die membranen destabiliseren. In hoofdstuk 4 wordt een zeepvrije methode beschreven die microdeeltjes specifiek aan bepaalde moleculen laat binden (zie figuur 4.5 op pagina 64). Naast

toepassing in dit proefschrift, zijn dit soort deeltjes-coatings ook interessant voor lokale toediening van medicijnen.

Om nu uit microscoop-opnames van deze microdeeltjes iets te kunnen zeggen over welke krachten ze op elkaar uitoefenen, waren analyse-methoden nodig. In hoofdstuk 2 beschrijf ik een nieuwe beeldanalysetechniek om de deeltjes te volgen. Naast dat deze techniek de locatie van een deeltje in een foto kan bepalen met een meetnauwkeurigheid onder de 0.1 pixel, kan het ook deeltjes van elkaar onderscheiden in 100% van de geteste beelden, terwijl de conventionele methode slechts in 11% van de beelden de deeltjes juist onderscheidt (zie figuur 2.4 op pagina 20). In hoofdstuk 3 vergelijk ik vervolgens drie methodes om krachten af te leiden uit de geobserveerde deeltjes-trajecten.

Deze methodes komen bij elkaar in hoofdstuk 5, waar ik het gedrag van microdeeltjes op lipide membranen bestudeer. Verassend genoeg blijken deze deeltjes ofwel aan het membraan vast te gaan zitten zonder het membraan te vervormen, ofwel ze wikkelen zichzelf helemaal in in het membraan en veroorzaken een vervorming (zie figuur 5.2 op pagina 74). Dit 'alles of niets' gedrag is te beïnvloeden door de affiniteit van de deeltjes voor de membranen te veranderen. Alleen de deeltjes die het membraan vervormen, oefenen een kracht op elkaar uit. Dit bewijst de voorspelling dat celmembranen krachten tussen membraan-vervormende objecten kunnen overbrengen. Computer-simulaties (zie figuur 5.5 op pagina 79) laten zien dat de gemeten kracht voortkomt uit de buigstijfheid van het membraan.

In hoofdstuk 6 gebruik ik dezelfde experimenten om een heel andere vraag te beantwoorden: hoe gedragen plastic microdeeltjes zich op celmembranen? Deze vraag wordt steeds urgenter nu microplastics zich via de zee verspreiden in de voedselketen. Ik beschrijf dat wanneer meerdere deeltjes blijven plakken aan een celmembraan, deze via verschillende mechanismen op het membraan kan samenklonteren (zie figuur 6.4 op pagina 92). Dit is een mogelijke verklaring voor de onverwacht hoge retentietijden van microplastics in levende organismen: omdat de microplastics samenklonteren, raakt een organisme ze veel minder snel weer kwijt.

In de laatste twee hoofdstukken van mijn proefschrift beschrijf ik een mogelijke toepassing van lipiden. Eerst, in hoofdstuk 7, bestudeer ik een olie (TPM) die in een basische oplossing emulsiedruppels vormt van één bepaalde grootte. Vervolgens zet ik in hoofdstuk 8 lipiden op het oppervlak van deze druppels. Omdat de druppels vloeibaar zijn, zijn de lipiden mobiel over het oppervlak. Ik laat zien dat eiwitten en DNA-moleculen die aan deze lipiden worden vastgemaakt ook mobiel zijn over het oppervlak van de druppels (zie figuur 8.2 op pagina 129). Dit maakt deze lipide monolagen een model voor celmembranen met gecontroleerde krommingsstraal. Alhoewel individuele moleculen mobiel zijn, zijn microdeeltjes die aan het druppeloppervlak zitten dat niet. TPM-druppels zijn dus niet volledig vloeibaar.

Met dit proefschrift hoop ik een bijdrage te leveren aan het begrip over krachten die membranen overbrengen. Enerzijds is dit begrip fundamenteel celbiologisch en zegt het iets over krachten tussen membraan-eiwitten, anderzijds draagt het bij aan het begrip over de toxiciteit van microplastics.