



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Physics implications of shape on biological function

Pomp, W.

Citation

Pomp, W. (2017, December 5). *Physics implications of shape on biological function*. Casimir PhD Series. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/57789>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/57789>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/57789> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Pomp, Wim

Title: Physics implications of shape on biological function

Date: 2017-12-05

Samenvatting

Schrödingers boek 'What is life', geschreven in 1944 wordt vaak gezien als de start van het veld biofysica. Echter, de term en het onderzoeksveld bestonden al lang voor dat, de experimenten van Luigi Galvani, die al in 1780 kikkerspieren elektrisch stimuleerde waren waarschijnlijk het begin. Natuurkunde en biologie waren toen al gevestigde velden met een lange geschiedenis. Het is de samenvloeiing van deze twee velden wat geleid heeft tot onverwachte ontdekkingen in de afgelopen eeuw, zoals de identificatie van DNA als de oorzaak van erfelijkheid (besproken in Schrödingers boek), de kaart van het menselijk genoom in de 1990's, onze huidige kennis van de structuur van een groot deel van het proteoom en ons opkomende begrip van cellulaire controle en zelf-organisatie door chemische en fysische aanwijzingen. Veel van deze successen waren verbonden met technische ontwikkelingen in microscopie, een van de voornaamste gereedschappen van de biofysica. De vooruitgang in de microscopie werd beloond met drie Nobelprijzen. De scanning elektron microscoop, ontwikkeld door Ernst Ruska, werd beloond met de Nobel prijs in natuurkunde in 1986, de Nobelprijs voor scheikunde in 2014 ging naar biofysici voor de ontwikkeling van optische super-opgeloste fluorescentie microscopie. En recent, in 2017, werd de Nobelprijs in scheikunde gegeven aan biofysici die de mogelijkheden van de elektron microscoop voor de vaststelling van eiwitstructuren dramatisch verbeterd hebben.

Het werk beschreven in dit proefschrift maakt veel gebruik van hoge-resolutie ultra-gevoelige fluorescentie microscopie, meestal voor de observatie van dood of levend materiaal. Bovendien, in hoofdstuk 3 wordt de microscoop ook gebruikt voor lokaal gecontroleerde initiatie van een door biologie geïnspireerd proces. Evenzo, in hoofdstuk 2 wordt de microscoop gebruikt voor het maken van benodigde structuur voor het experiment. In hoofdstukken 4 en 5, waar driedimensionale objecten worden onderzocht, is een speciale vorm van microscopie, confocale microscopie genaamd, gebruikt om extra duidelijke beelden te maken.

Het veld van biologische natuurkunde bestudeert biologische fenomenen over een groot bereik van lengte-schalen. Van het individuele watermolecuul dat door een lipide membraan dringt, processen die gebeuren bij het uitlezen van genetische informatie van DNA, het mechanische persen van cellen door nauwe poriën in een weefsel, lenige vluchtnavigatie van vliegen, tot zelfs aan het effect van het globale milieu op organismes en populaties. Overkoepelend over al deze studies van het kleinste molecuul tot aan het grootste organisme is de rol van vorm, die altijd een immense rol speelt in het bepalen van functie. In dit proefschrift raak ik dit onderwerp, over vorm en functie in biologie, aan door een paar opwindende voorbeelden rondom cellulaire schaal en kleiner.

In **hoofdstuk 2** verken ik de invloed van vorm en morfologie op die functie van dendritische spines. Dendritische spines zijn belangrijke structuren in het brein die betrokken zijn bij geheugen en leren. Op de dendritische spine verbindt een neuron zich aan een ander. Deze verbinding heet 'synaps', en vormt het contact om signalen tussen de twee neuronen te versturen. Het presynaptische eindknopje van de neuron aan de verzendende kant staat tegenover de dendritische spine, dat meestal een paddenstoelvormig uitsteeksel is aan de ontvangende kant van het volgende neuron. Het signaal wordt doorgegeven door het afstaan van kleine moleculen, neurotransmitters, door het eindknopje. Deze neurotransmitters worden waargenomen door receptoren op het membraan van de dendritische spine. Daardoor bepaalt het aantal receptoren op de dendritische spine de sterkte van het signaal.

Het experiment beschreven in hoofdstuk 2 bootst de dendritische spine na. De kunstmatige dendritische spine die ik geconstrueerd heb, bestaat uit een reusachtig unilamellair vesikel, waaruit ik een paar-honderd-nanometer-dun membraan buisje getrokken heb. Op deze manier wordt de paddenstoelvorm nagebootst. De rol van receptoren in mijn kunstmatig systeem wordt gespeeld door kwantum dots die zijn vastgemaakt aan lipiden in het membraan. Met dit systeem was ik in staat om de invloed van de vorm van de dendritische spine op het behoud van receptoren in de dendritische spine te onderstrepen.

In **hoofdstuk 3** onderzoek ik een systeem met een kleinere schaal. Ik laat de invloed van lokale verschillen in de mechanica in het membraan van een cel zien. Het plasmamembraan definieert een cel door binnen- en buitenkant uit elkaar te houden. Andere membranen worden in de cel gebruikt om verschillende compartimenten met verschillende functies te vormen. De grootste daarvan is in eukariotische cellen de celkern. Net zoals elke stof, kunnen lipiden, waarvan membranen gemaakt zijn, bestaan in verschillende toestanden. Voor de meeste substanties zijn dit de vaste, vloeibare en gasvormige toestanden. Lipiden laten een rijkere faseruimte zien. Er is een gelfase waarin lipiden vast zitten op hun plek, zoals in een vaste stof. Er zijn twee vloeibare toestanden, meestal

gelabeld als 'vloeibaar-geordend' en 'vloeibaar-ongeordend', waarin lipiden vrij kunnen bewegen in het membraan, tegelijk zijn al de staartdelen van de lipiden georiënteerd in een voorkeursrichting. De temperatuur waarbij lipiden een toestandsverandering ondergaan hangt af van het type lipide. Daardoor hebben op een gegeven temperatuur verschillende lipiden voorkeuren voor verschillende toestanden. Daarom kunnen ze van elkaar scheiden en homogene gebieden vormen, ongeveer zo als de scheiding van olie en water.

Dit proces, fasescheiding genoemd, zette ik in beweging in reusachtige unilamellaire vesikels door licht te gebruiken. Gedurende dit proces verandert het membraan significant, er komt meer oppervlak beschikbaar, en als resultaat vermindert de membraanspanning. Op deze manier wordt de vorm van het membraan beïnvloed op een kleine schaal. Er is voorgesteld dat zo een scheiding van lipide toestanden de binding van eiwitten beïnvloedt en leidt tot structurele organisatie van het celmembraan.

In **hoofdstuk 4** veranderde ik mijn aanpak een beetje. In dit hoofdstuk bekeek ik de vorm van cellen als geheel. De vorm van een cel wordt grotendeels bepaald door het cytoskelet. Ik maakte gebruik van een confocale microscoop om beelden te maken van actine, een belangrijk component van het cytoskelet. Actine staat samen met bundels motoreiwitten aan de basis van samentrekking van spieren. In het algemeen bevindt actine zich in alle cellen en is het een belangrijk structureel component. Ik heb gekeken naar de organisatie van actine in de cel en heb de organisatie gecorreleerd met de vorm van de cel.

Cellen hechten zich normaal gesproken via afzonderlijke punten aan een plat substraat. Tussen deze punten is de rand van de cel glad en op een karakteristieke manier gekromd. Het blijkt dat de bijzondere vorm van deze randen ons over de anisotropie van het cytoskelet in de cel vertelt. De anisotropie in de cel komt door lange uitgelijnde bundels van actine, gespannen door de hele cel. Ik ontdekte dat de rand van de cel een elliptische kromme volgt die karakteristiek is voor iedere cel. Ik ontwikkelde een model dat voorspelde dat alle ellipsen die aan een enkele cel passen allemaal dezelfde grootte en excentriciteit hebben. Bovendien wijzen de lange assen van de ellipsen in de richting in welke de actine bundels wijzen.

Ik vervolgde dit verhaal in **hoofdstuk 5**. In dit hoofdstuk beïnvloed ik de vorm van cellen actief door een stof toe te voegen (ROCK-remmer). Het eiwit ROCK promoot normaal gesproken de activiteit van myosine motoren, die zorgt van een samentrekking van actine bundels. Verder promoot het de formatie van lange bundels van actine, die ik genoemd heb in de vorige alinea.

De ROCK-remmer blokkeert deze activiteit en maakt daardoor deze bundels korter en minder samentrekkend. Als resultaat wordt het actine cytoskelet meer isotroop. Ik ontdekte, als voorspeld door het in hoofdstuk 4 ontwikkelde model, dat de vorm van de celranden een circulaire vorm aannam na toevoeging van de stof.

Samengevat, dit proefschrift past natuurkundige principes toe op biologie door het overwegen van de invloed van de vorm van structuren op biologische systemen. Ideeën zijn toegepast op cellulair en kleiner niveau. Door natuurkundige modellen te ontwikkelen was ik in staat belangrijke parameters van de systemen waarnaar ik gekeken heb te kwantificeren. Dit stelde me in staat om kwalitatief te beweren dat de vorm van een cel is een belangrijke parameter in biologische functie.