



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Anisotropy in cell mechanics

Schakenraad, K.K.

Citation

Schakenraad, K. K. (2020, May 13). *Anisotropy in cell mechanics. Casimir PhD Series*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/87895>

Version: Publisher's Version

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/87895>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/87895> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Schakenraad, K.K.

Title: Anisotropy in cell mechanics

Issue Date: 2020-05-13

Samenvatting

Wat hebben natuurkunde en biologie met elkaar te maken? Hoewel dit oorspronkelijk twee onafhankelijke wetenschappen waren, kunnen beide vakgebieden veel van elkaar leren. Enerzijds vormen de complexe en ingenieuze structuren en materialen waaruit levende organismen zijn opgebouwd een enorme inspiratie voor nieuwe technologische toepassingen. Je kunt hierbij bijvoorbeeld denken aan het ontwerpen van operatierobots die tijdens het opereren van vorm moeten kunnen veranderen. Anderzijds vinden er in levende organismen een hoop natuurkundige processen plaats, waardoor het bestuderen van het leven met een natuurkundige bril leidt tot een beter begrip van biologische processen op verschillende schalen. Zo speelt de mechanica, de tak van de natuurkunde die zich bezighoudt met de relatie tussen krachten, vervorming en beweging, een belangrijke rol bij het aflezen en kopiëren van de erfelijke code in het DNA, bij de embryonale ontwikkeling, en zelfs bij het collectieve gedrag van een school vissen of een zwerm vogels. Op de langere termijn kunnen deze natuurkundige inzichten ook leiden tot nieuwe medische toepassingen, zoals het verbeteren van behandelingen van astma, malaria en kanker.

In dit proefschrift kijken we niet direct naar deze medische toepassingen, maar leveren we een bijdrage aan de fundamentele kennis van de biofysica, het snijvlak van natuurkunde en biologie. Dit doen we door cellen te bestuderen. Alle levende organismen zijn opgebouwd uit cellen, die vaak gespecialiseerd zijn als bijvoorbeeld spiercellen of levercellen. Om hun taken uit te voeren produceren cellen allerlei stoffen. Je kunt hier bijvoorbeeld denken aan speeksel of maagzuur, maar ook aan hersencellen die met elkaar communiceren via neurotransmitters. Cellen worden dan ook vaak bestudeerd vanuit het perspectief van de biochemie. Er zijn echter ook veel cellen die mechanische taken uit moeten voeren, zoals rondlopen om op een ziekteverwekker te jagen of aan weefsel trekken om een wond te dichten. Het vakgebied dat probeert te begrijpen hoe cellen dit soort mechanische taken uitvoeren, heet de celmechanica. In dit proefschrift bestuderen we celmechanica met behulp van theoretisch onderzoek: we gebruiken wiskundige modellen om biofysische processen te beschrijven. Theoretisch natuurkundig onderzoek met behulp van wiskundige modellen is zo oud als de natuurkunde zelf, maar in de biologie is theoretisch onderzoek relatief nieuw. De invloed van de zogenoemde mathematische biologie wordt echter steeds groter. In dit proefschrift combineren we methoden uit de theoretische

natuurkunde en de mathematische biologie. Het is daarbij heel belangrijk dat de theorie altijd hand in hand gaat met het experiment, omdat theoretisch werk juist in samenwerking met experimenten zijn meest nuttige bijdrage kan leveren. Zo kunnen met behulp van modellen kwantitatieve (zoals in Hoofdstukken 2 en 3) of kwalitatieve (Hoofdstuk 4) voorspellingen gedaan worden die weer als inspiratie kunnen dienen voor nieuwe experimenten. Bovendien kunnen verschillende verschijnselen in modellen eenvoudig worden toegevoegd of juist weggelaten, waardoor modellen kunnen helpen de uitkomsten van experimenten te interpreteren (Hoofdstuk 5).

In dit proefschrift kijken we naar het effect van *anisotropie* op de celmechanica. Dat is het tegenovergestelde van *isotropie*, wat letterlijk ‘gelijk in elke richting’ betekent. Een materiaal is isotroop als je het verschil niet zou kunnen zien als het gedraaid wordt, zoals bij zand. Anisotrope materialen bestaan vaak uit langwerpige deeltjes, waardoor je het wel kunt zien als ze gedraaid worden. Zie bijvoorbeeld Figuur 1.4b in Hoofdstuk 1. De technologie van een LCD-scherm maakt hier bijvoorbeeld gebruik van, maar je zou ook iets alledaags als een doosje lucifers anisotroop kunnen noemen. Dit proefschrift bevat twee delen, die twee verschillende aspecten van anisotropie in de celmechanica bestuderen. In **Deel I** (Hoofdstukken 2, 3, en 4) bestuderen we het cytoskelet van de cel. Het cytoskelet is een complex netwerk van filamenten in de cel dat de cel stevig maakt maar ook laat bewegen. Met andere woorden, het cytoskelet is voor een cel wat de combinatie van botten en spieren zijn voor het menselijk lichaam. We concentreren ons hierbij op een specifiek soort filament dat actine heet. Actinefilamenten kunnen in grote hoeveelheden allerlei complexe structuren vormen. Wij hebben vooral gekeken naar zogenaamde stress fibers, dikke bundels van parallelle actinefilamenten. De actinefilamenten hierin kunnen ten opzichte van elkaar schuiven, waardoor stress fibers aan hun omgeving kunnen trekken. In Deel I bestuderen we hoe cellen deze stress fibers gebruiken om hun eigen vorm te reguleren en om krachten op hun omgeving uit te oefenen. De typen cellen die wij bestuderen, bevatten veel stress fibers die vaak dezelfde oriëntatie hebben als de naastgelegen stress fibers. Dit is zichtbaar in bijvoorbeeld Figuur 1.4a en geïllustreerd met lijnen op de kaft. Omdat de stress fibers dus parallel aan elkaar liggen, is het cytoskelet van deze cellen anisotroop. Daardoor trekken deze cellen niet even hard in alle richtingen, maar wordt de kracht in één richting geconcentreerd. We bestuderen dus hoe de anisotropie van het cytoskelet de mechanica van de cel beïnvloedt.

We beginnen in **Hoofdstuk 2** met de vraag hoe het cytoskelet de vorm van de cel bepaalt. We doen dit door samen te werken met collega's die experimenten doen waarbij ze cellen op een chemisch bewerkte oppervlak leggen dat we het substraat noemen. Deze cellen spreiden zich over het substraat uit en binden er op een aantal plaatsen aan. Omdat de rand van deze cellen nu door de stress fibers in hun cytoskelet naar binnen getrokken wordt, heeft elk stuk van de rand tussen twee bindingsplaatsen een naar binnen gekromde vorm. Zie bijvoorbeeld Figuren 1.2, 1.3, 2.1 en 2.2 in Hoofdstukken 1 en 2 en de illustratie op de kaft. Bij cellen met een isotroop cytoskelet, dus zonder parallelle stress fibers, kan de vorm van dit stuk celrand goed benaderd worden met een stuk van een cirkel. De vorm van de celrand is dus ook isotroop: je zou het verschil niet kunnen

zien als een cirkel wordt gedraaid. Bij cellen met een anisotroop cytoskelet, dus met parallelle stress fibers, blijkt echter uit de experimenten dat de vorm van de cel niet meer met cirkels benaderd kan worden. Om dat te verklaren, hebben wij eerdere modellen voor de celvorm uitgebreid met het effect van stress fibers. Ons model voorspelt dat bij cellen met een anisotroop cytoskelet elk stuk naar binnen gekromde rand de vorm van een ellips heeft. Een ellips is een cirkel die in één richting is uitgerekt, zie bijvoorbeeld Figuur 2.2. Deze vorm is dus, net als de stress fibers, anisotroop omdat je het kan zien als een ellips gedraaid wordt. Het model voorspelt daarnaast dat de richting waarin de cirkel is uitgerekt precies gelijk is aan de richting van de stress fibers in de cel. Uit de experimentele data van onze collega's blijkt dat beide voorspellingen van het model correct zijn. Daarmee hebben we dus laten zien dat cellen de anisotropie van hun binnenkant, in de vorm van parallelle stress fibers, kunnen gebruiken om hun vorm aan de buitenkant ook anisotroop te maken. Dit is relevant voor cellen die zich in het lichaam door nauwe openingen moeten wringen zoals cellen die op een ziekteverwekker jagen, cellen die wondjes genezen, of kankercellen tijdens een uitzaaiing.

In **Hoofdstuk 3** draaien we de vraag om, en bestuderen we hoe de vorm van de cel de structuur van het cytoskelet beïnvloedt. We hebben een model ontwikkeld dat beschrijft hoe de celvorm de oriëntatie van de stress fibers in de hele cel beïnvloedt. Ons model laat zien dat de stress fibers in de cel enerzijds dezelfde oriëntatie 'willen' hebben als de naastgelegen stress fibers, en anderzijds dezelfde oriëntatie als de dichtstbijzijnde celrand. De voorspellingen van ons model tonen veel overeenkomsten met de experimentele data van onze collega's. Hiermee hebben we laten zien dat de structuur van het cytoskelet niet volledig begrepen kan worden door de vorming van individuele stress fibers te bestuderen, maar dat de vorm van de cel waarin de stress fibers zich bevinden ook een belangrijke rol speelt.

In **Hoofdstuk 4** implementeren we het model uit Hoofdstuk 3 in het *Cellular Potts Model*, een veel gebruikt computermodel uit de mathematische biologie voor het simuleren van celmechanica. Met behulp van het Cellular Potts Model bestuderen we de krachten die cellen uitoefenen op het substraat waar ze op liggen. Deze krachten worden tractiekrachten genoemd. Er bestaan al veel modellen om deze krachten uit te rekenen, maar deze modellen gebruiken doorgaans de aanname dat het cytoskelet isotroop is. In Hoofdstuk 4 bestuderen we hoe de tractiekrachten veranderen als het cytoskelet veel parallelle stress fibers bevat, en dus anisotroop is. De voorspellingen van ons model laten zien dat de tractiekrachten sterk afhangen van de specifieke structuur van het cytoskelet: de oriëntatie van de stress fibers bepaalt zowel de richting van de tractiekrachten als de plek waar de cel de grootste krachten op het substraat uitoefent. Onze voorspellingen reproduceren experimentele observaties uit de literatuur die eerdere isotrope modellen niet konden verklaren.

In **Deel II** van dit proefschrift verleggen we onze aandacht naar een ander aspect van celmechanica, en bestuderen we de migratie van cellen over een substraat. Er zijn veel mechanismen bekend die cellen kunnen stimuleren om in een specifieke richting te bewegen. Het bekendste voorbeeld hiervan is *chemotaxis*, een proces waarbij cellen naar

een hogere of juist een lagere concentratie van een bepaalde stof bewegen. Er zijn echter ook veel mechanische stimuli bekend die cellen een specifieke kant op kunnen sturen. De belangrijkste voorbeelden hiervan zijn *haptotaxis*, waarbij cellen richting gebieden migreren waar ze makkelijker aan het substraat kunnen binden, en *durotaxis*, waarbij cellen van zachte naar harde substraten bewegen. Omdat de cellen in deze processen een voorkeur hebben voor één specifieke richting, zou je het kunnen waarnemen als het substraat gedraaid werd. Deze processen zijn dus ook anisotroop. Studies naar deze anisotrope stimuli worden vanwege reproduceerbaarheid en praktische overwegingen vaak op volledig vlakke substraten gedaan. In het menselijk lichaam komen migrerende cellen echter voortdurend obstakels tegen, zoals andere cellen of bloedvaten, maar het is onbekend hoe deze obstakels de gerichte beweging van cellen beïnvloeden. Om dit op een systematische manier te onderzoeken, bestuderen onze experimentele collega's de beweging van cellen over substraten waar ze kunstmatige obstakels op hebben aangebracht. Daarbij deden ze een interessante ontdekking: als de dichtheid van de obstakels varieert over het substraat, zorgen de obstakels zelf voor een anisotrope stimulus. De cellen bewegen dan vaak van gebieden met veel obstakels naar gebieden met minder obstakels: ze vertonen *topotaxis*. Uit de experimenten is het echter lastig op te maken waardoor de cellen hiertoe in staat zijn. Daar komen wij in beeld.

In **Hoofdstuk 5** bestuderen we *topotaxis* met behulp van computersimulaties van bewegende deeltjes, een sterk vereenvoudigd model voor celmigratie. De kern van dit model is dat de voortbeweging van de deeltjes, net als die van de echte cellen, *persistent* is: de deeltjes bewegen altijd een stuk in dezelfde richting voordat ze in een willekeurige richting afbuigen. Als ze echter een obstakel tegenkomen, moeten ze eromheen bewegen. Wanneer we deze deeltjes laten rondbewegen in een obstakellandschap met een variatie in de obstakeldichtheid, observeren wij ook *topotaxis*: de deeltjes bewegen vaker van gebieden met veel obstakels naar gebieden met weinig obstakels dan andersom. Hiermee hebben we laten zien dat persistente voortbeweging op zichzelf al voldoende is voor het optreden van *topotaxis*, ook in de afwezigheid van complexere biologische processen of 'intelligentie' van de cellen. Wel blijkt uit een vergelijking tussen de experimenten en onze simulaties dat cellen een stuk sneller in de richting van lage obstakeldichtheid bewegen dan de gesimuleerde deeltjes, wat suggereert dat er ook andere natuurkundige en/of biologische processen een rol spelen bij *topotaxis*. In **Hoofdstuk 6** bespreken we lopend vervolgonderzoek waarin we proberen deze andere processen te identificeren. Dit onderzoek laat onder andere zien dat de verklaring voor de hogere snelheid van *topotaxis* bij cellen wellicht te vinden is in de manier waarop deeltjes en cellen reageren op botsingen met obstakels. De gesimuleerde deeltjes zijn 'dom' en proberen altijd rechtdoor te lopen, ook als er iets in de weg staat. Cellen lijken echter mechanismen te gebruiken om hun richting van voortbeweging snel aan te passen als ze een obstakel tegenkomen. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen of dit inderdaad het verschil in snelheid van *topotaxis* tussen deeltjes en cellen verklaart.