



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Skeletal muscle in a dish: towards making skeletal muscle in vitro

Dahri, O.

Citation

Dahri, O. (2025, October 23). *Skeletal muscle in a dish: towards making skeletal muscle in vitro*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4279648>

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/1887/4279648>

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

Nederlandse Samenvatting

Skeletspierweefsel is het meest voorkomende weefsel in het menselijk lichaam en speelt een cruciale rol in talrijke fysiologische functies. In de afgelopen decennia is de kennis over de werking van skeletspieren en de bijbehorende ziekten aanzienlijk toegenomen, voornamelijk dankzij de ontwikkeling van geavanceerde in vitro-modellen. Deze modellen zijn essentieel geworden voor het bestuderen van stamcel-gebaseerde regeneratieve geneeskunde, het testen van nieuwe therapeutische strategieën en het onderzoeken van de mechanismen die ten grondslag liggen aan zowel gezond als ziek spierweefsel.

In dit proefschrift hebben we verschillende aspecten onderzocht van het in vitro nabootsen van menselijk skeletspierweefsel. Ons onderzoek varieerde van het beschrijven van niet-coderend RNA (ncRNA) in de differentiatie van geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSCs) tot het ontwikkelen van innovatieve materialen voor in vitro modellen. Daarnaast hebben we geavanceerde 3D-modellen geëvalueerd in de context van skeletspierziekten, waarmee we ons begrip van dit complexe weefsel verder hebben verdiept.

Hoofdstuk 1 biedt een algemene inleiding in humane stamcelbiologie en myogenese. Dit hoofdstuk gaat in op de vroege embryonale ontwikkeling van de drie kiemlagen, met een focus op de vorming van het mesoderm en de ontwikkeling van skeletspieren. Ook worden de verschillende subtypes van ncRNA besproken en hun in de literatuur gerapporteerde rol in de context van skeletspierontwikkeling. Tot slot geeft het een overzicht van de toegepaste engineeringstechnieken voor het creëren en ontwikkelen van in vitro-modellen voor skeletspieronderzoek.

Hoofdstuk 2 onderzocht de rol van ncRNA's en epigenetisch geheugen tijdens de vroege differentiatie van kiemlagen. Met behulp van multi-omics sequencing werd een subset van ncRNA-biotypen geïdentificeerd die specifiek zijn voor de differentiatie van mesoderm, endoderm of ectoderm. Onze studie benadrukt het belang van ncRNA's bij het reguleren van differentiatie. Daarnaast identificeerde deze studie mogelijke doelen voor het verbeteren van differentiatieprotocollen voor humane iPSC's. Opvallend was de onverwachte identificatie van transfer-RNA (tRNA)-fragmenten als een biotype, wat vragen oproept over hun regulerende rol in vroege kiemlaagdifferentiaties. Het onderzoek in hoofdstuk 2 leverde een robuuste multi-omics dataset op die toekomstige functionele studies kan ondersteunen bij het valideren van de rollen van geïdentificeerde ncRNA's. Daarnaast kan deze dataset helpen bij het verbeteren van de differentiatie van iPSC's. Daarmee biedt de dataset dus ook inzichten in de rol van ncRNA's in mesodermdifferentiatie, de kiemlaag waaruit skeletspieren ontstaan. Deze bevindingen kunnen collectief bijdragen aan een beter begrip van iPSC-afgeleide skeletspierdifferentiatie.

Hoofdstuk 3 richtte zich op de ontwikkeling van een nieuw magneto-actief biocompatibel materiaal dat aanzienlijke verbeteringen liet zien in de differentiatie van myoblasten in 3D modellen. Dit magneto-geleidende materiaal, ontworpen voor melt electrowriting (MEW), bevordert de organisatie en maturatie van spiervezels, en bootst enkele mechanische eigenschappen van in vivo skeletspierweefsel na. Deze vooruitgang in het veld biedt kansen voor het wetenschappelijk veld om de in vitro omgeving beter vorm te geven.

Hoofdstuk 4 evalueerde verschillende 3D-skeletspiermodellen en benadrukte de effectiviteit van cantilever-gebaseerde modellen voor het testen van verbetering in functionaliteit. Microweefsels bleken optimaal voor het testen van gencorrectie.

Daarnaast waren de resultaten van een gevasculariseerd skeletspier-op-een-chip-model veelbelovend vooral op het gebied van differentiatie-efficiënties. In dit hoofdstuk ontwikkelden we een systematische aanpak om het meest geschikte 3D-model te selecteren, afgestemd op specifieke experimentele behoeften.

Hoofdstuk 5 rapporteert de ontwikkeling van betrouwbare RNA-kleuringstechnieken voor skeletspierweefsels en microweefsels. Het gedetailleerde protocol dat in dit hoofdstuk wordt beschreven, verbetert de nauwkeurigheid bij het analyseren van gen- en eiwitexpressie. Deze methode is een waardevol instrument dat kan worden toegepast op zowel in vivo skeletspierweefsel als op 3D in vitro skeletspiermodellen.