

Een kritisch punt in de bindingssterkte van cellen

Een volwassen menselijk lichaam bestaat uit ongeveer $3 \cdot 10^{13}$ cellen, waarvan 10% toebehoort aan vast weefsel. Deze cellen zijn fysiek aan elkaar gebonden via een proces dat celadhesie wordt genoemd. Door middel van adhesiereceptoren gelegen aan de buitenkant van het celmembraan kan een cel zich aan zijn naburige cellen binden. Uiteraard moet de bindingssterkte van deze adhesiereceptoren groot genoeg zijn, anders zouden we spontaan uiteenvallen in een poeltje individuele cellen. Logischerwijs neemt de totale bindingssterkte toe met het aantal adhesiereceptoren. Maar wat gebeurt er bij veranderingen in de membraanstijfheid zoals bijvoorbeeld waargenomen bij tumorcellen? Kan dit leiden tot een sterkere of zwakkere binding?

Affiniteit & aviditeit

Voordat we deze vraag kunnen beantwoorden moeten we een onderscheid maken tussen de individuele en totale bindingssterkte. De individuele bindingssterkte tussen twee adhesiereceptoren wordt ook wel de *affiniteit* genoemd (zie figuur 1, linkerkolom). De totale bindingssterkte van een cel met één of meer burens heet de *aviditeit* (zie figuur 1, rechterkolom). Een hogere affiniteit leidt bij een gelijk aantal gebonden receptoren automatisch tot een hogere aviditeit, maar het tegenovergestelde is niet altijd waar! Veranderingen in de stijfheid van het celmembraan kunnen namelijk de aviditeit van een cel veranderen, zonder daarbij de affiniteit van de adhesiereceptoren te veranderen. Om deze verandering in aviditeit te begrijpen moeten we kijken naar de wisselwerking tussen het celmembraan en de adhesiereceptoren die betrokken zijn bij de binding. We beginnen met het celmembraan.

Trillende celmembranen

Vanuit een theoretisch oogpunt beschrijven we het celmembraan als een tweedimensionaal oppervlak met membraanstijfheid κ , hetgeen aangeeft hoeveel energie het kost om het membraan te deformeren. Hoe groter κ , des te stijver het oppervlak. Voor biologische cellen ligt κ ongeveer tussen de 4 en $400 k_B T$ [1], waar k_B de boltzmanconstante is en T de temperatuur in kelvin. Door thermische schommelingen afkomstig van het omliggende medium – bijvoorbeeld door watermoleculen – ondergaat het celmembraan hoogtefluctuaties ter orde van nanometers met een amplitude die evenredig is aan $\kappa^{-1/2}$. Oftewel, een stijver celmembraan heeft kleinere hoogtefluctuaties en vice versa. Deze hoogtefluctuaties hebben zowel een versterkend als een

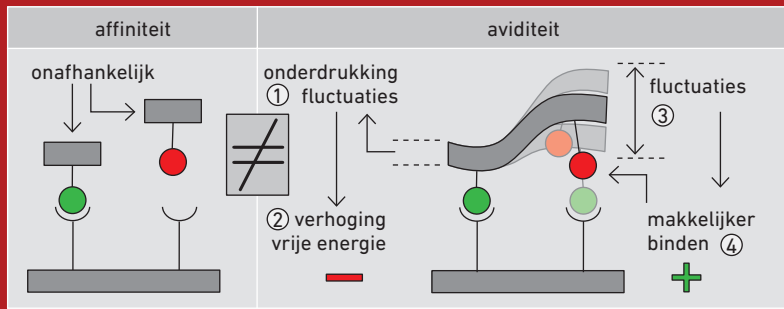
verzwakkend effect op de aviditeit, maar hoe werkt dat precies?

1 adhesiereceptor + 1 adhesiereceptor \neq 2 adhesiereceptoren

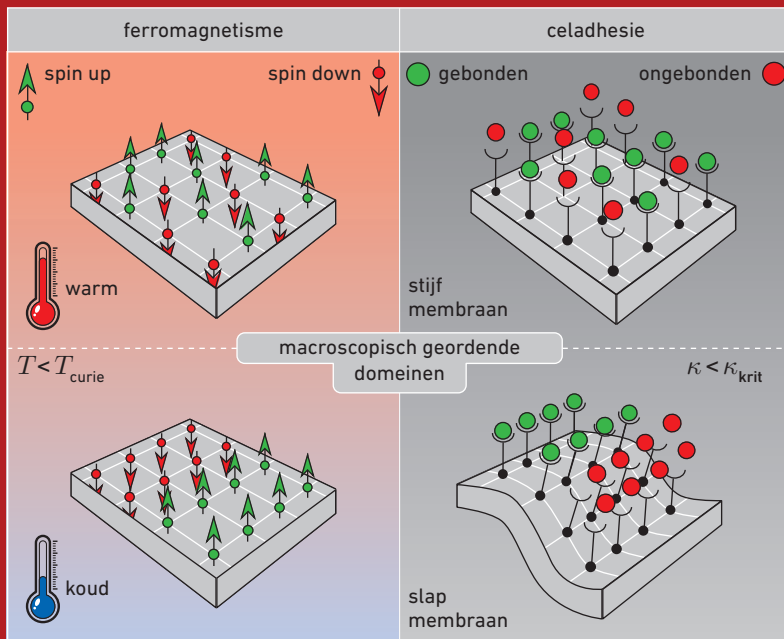
Ter vereenvoudiging nemen we een cel met N adhesiereceptoren die zich vrij bewegen over het celmembraan en zich kunnen binden aan adhesiereceptoren op een onderliggend oppervlak. Zodra een adhesiereceptor bindt ontstaat er een lokale uitstulping van het celmembraan. Hierdoor bevinden de omliggende adhesiereceptoren zich op een kleinere afstand tot het onderliggende oppervlak. Deze afstandsvermindering in combinatie met de hoogtefluctuaties leidt ertoe dat de omliggende adhesiereceptoren zich makkelijker binden, wat de aviditeit verhoogt [2]. Dit is echter niet het complete verhaal. Een gebonden adhesiereceptor onderdrukt lokaal hoogtefluctuaties. Aangezien het membraan in thermodynamisch evenwicht is met zijn omgeving, leidt deze onderdrukking tot een verlaging van de entropie, resulterend in een verhoging van de vrije energie, hetgeen tot slot de aviditeit verlaagt [3]. Er zijn dus twee collectieve effecten van een gebonden adhesiereceptor die bijdragen aan de aviditeit van een cel: een toename dankzij het makkelijker binden van omliggende adhesiereceptoren, en een afname door het onderdrukken van hoogtefluctuaties (zie figuur 1, rechterkolom). De sterkte waarmee beide effecten bijdragen aan de aviditeit hangt af van de hoeveelheid gebonden receptoren. In een compleet ongebonden toestand zijn de hoogtefluctuaties sterk aanwezig waardoor het eerste effect overheerst. Bij een compleet gebonden toestand daarentegen zijn hoogtefluctuaties sterk onderdrukt, waardoor het tweede effect de overhand heeft.



Kristian Blom voltooide zijn bachelor Nanobiology aan de TU Delft en Erasmus Universiteit Rotterdam in 2017, waarna hij een master Theoretical and Mathematical Physics voltooide aan Oxford University in 2018. Zijn promotieonderzoek vindt plaats aan het Max Planck Instituut für Multidisziplinäre Naturwissenschaften in Göttingen (Duitsland) waar hij zich focust op statistische fysica en correlatie-effecten in biologische systemen. kblom@mpibpc.mpg.de



Figuur 1. Affiniteit, aviditeit en de collectieve effecten van hoogtfluctuaties. Linker kolom: twee onafhankelijke adhesiereceptoren waarvan de linker gebonden is en de rechter ongebonden is. De bindingssterkte van onafhankelijke adhesiereceptoren heet de affiniteit. Rechter kolom: twee adhesiereceptoren die gebonden zijn aan hetzelfde celmembraan. De totale bindingssterkte van beide adhesiereceptoren heet de aviditeit. Hoogtfluctuaties van het membraan hebben twee collectieve effecten op de aviditeit: een afname doordat een gebonden adhesiereceptor hoogtfluctuaties van het membraan onderdrukt (1,2) en een toename doordat de naastliggende adhesiereceptor makkelijker bindt (3,4).



Figuur 2. Analogie tussen ferromagnetisme en celadhesie. Linker kolom: een set van zestien spins in een ferromagnetisch materiaal. Bij hoge temperaturen overheerst de entropie, waardoor de spins willekeurig omhoog (spin up) of omlaag (spin down) georiënteerd zijn. Bij lage temperaturen onder de curietemperatuur $T < T_{\text{curie}}$ overheerst de energie, waardoor macroscopisch geordende domeinen ontstaan met spins die in dezelfde richting wijzen. Rechter kolom: een doorsnede van een celmembraan met zestien adhesiereceptoren. Bij een stijf membraan overheerst de entropie, waardoor de receptoren willekeurig gebonden of ongebonden geplaatst zijn over het membraan. Bij een lagere membraanstijfheid onder het kritisch punt $\kappa < \kappa_{\text{krit}}$ ontstaan er macroscopische domeinen met alleen gebonden respectievelijk ongebonden receptoren.

Van celadhesie naar het klassieke Isingmodel...

Nu weten we kwalitatief hoe de aviditeit van een cel kan veranderen. Maar kunnen we dit ook kwantificeren? Hiervoor zetten we een theoretisch model op dat zowel de hoogtfluctuaties als de bewegings- en bindingsvrijheidsgraden van de individuele adhesiereceptoren meeneemt. Het klassieke Isingmodel bleek daarbij veel analogie met ons probleem te hebben [2]. Dit theoretische model, oorspronkelijk ontwikkeld in 1920 door de Duitsers Wilhelm Lenz en Ernst Ising, wordt gebruikt om ferromagnetisme te verklaren [4]. Ferromagnetisme is het fenomeen waarbij bepaalde materialen spontaan magnetisch worden wanneer de temperatuur lager is dan een kritische waarde. Een voorbeeld hiervan is ijzer, dat magnetisch is onder 1043 kelvin. Om dit te verklaren namen Lenz en Ising aan dat elk atoom in een ferromagnetisch materiaal een microscopisch kleine magnetische dipool bezit, ook wel een spin genoemd, die in één van twee richtingen kan wijzen: up of down. Deze spins hebben een wisselwerking met hun directe burens via een koppelingssterkte J , waardoor spins in dezelfde richting gaan wijzen. Bij hoge temperaturen heeft deze wisselwerking een zwak effect ten opzichte van de entropie. Daardoor gaan alle spins in een willekeurige richting wijzen, resulterend in een verdwijnen van de magnetische dipool. Bij voldoende lage temperaturen daarentegen overheerst het effect van de wisselwerking de entropie. Hierdoor treedt fase-scheiding op en ontstaan er clusters van spins die in dezelfde richting wijzen, resulterend in een magnetische dipool. De temperatuur waarbij spontane magnetisatie optreedt wordt de curietemperatuur (T_{curie}) genoemd (zie figuur 2, linkerkolom).

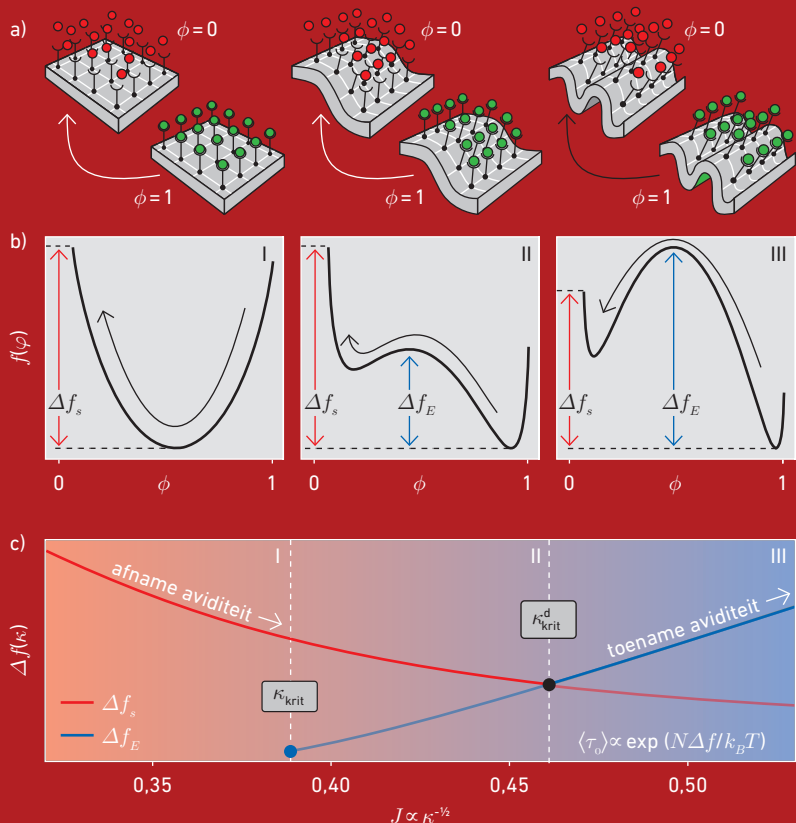
...en terug

Om van het klassieke Isingmodel terug te kunnen gaan naar celadhesie zijn twee stappen vereist. Allereerst ruilen we de spins in voor adhesiereceptoren, die in een gebonden (up) of ongebonden (down) toestand zijn. Tot

slot is de koppelingssterkte J direct evenredig met de hoogtefluctuaties, oftewel $J \propto \kappa^{-1/2}$. Deze relatie komt tot stand dankzij de eerdergenoemde collectieve effecten van hoogtefluctuaties en gebonden adhesiereceptoren. De curietemperatuur vertaalt zich naar een kritisch punt voor de membraanstijfheid κ_{krit} . Deze relatie zou betekenen dat gebonden en ongebonden adhesiereceptoren voor een slap membraan ($\kappa < \kappa_{\text{krit}}$) fasescheiding ondergaan, waardoor ze geclusterd over het celmembraan zijn verdeeld. Voor een stijf membraan ($\kappa > \kappa_{\text{krit}}$) daarentegen zouden de gebonden en ongebonden adhesiereceptoren willekeurig over het membraan zijn verdeeld (zie figuur 2, rechterkolom). En inderdaad, dit fenomeen is waargenomen in experimenteel onderzoek naar liposomen [5].

Een nieuw kritisch punt!

Gebruikmakend van het klassieke Isingmodel kunnen we het effect van hoogtefluctuaties op de aviditeit te meten, een daarvan is het meten van de gemiddelde ontbindingstijd $\langle \tau_o \rangle$ van een gebonden cel aan een onderliggend substraat. Hoe hoger de aviditeit, hoe langer het duurt voor de cel loskomt van het substraat. Maar wat gebeurt er bij een verandering van de membraanstijfheid? We focussen specifiek op de thermodynamische limiet waar we een oneindig aantal adhesiereceptoren nemen. Dit klinkt misschien wat gek, maar voor cellen met honderd (of meer) adhesiereceptoren blijkt dit al een goede benadering te zijn. In de thermodynamische limiet geldt dat $\lim_{N \rightarrow \infty} \langle \tau_o \rangle^{1/N} = \exp(\Delta f / k_B T)$, waar Δf de grootste vrije-energiebarrière is om los te komen van substraat. Maar hoe hangt Δf af van de membraanstijfheid κ ? In figuur 3a zien we doorsnedes van een celmembraan met zestien adhesiereceptoren met drie verschillende waarden voor de membraanstijfheid. Van links naar rechts: een stijf membraan boven het kritische punt ($\kappa > \kappa_{\text{krit}}$), een membraan tussen het kritische punt en het dynamisch kritische punt ($\kappa_{\text{krit}}^d < \kappa < \kappa_{\text{krit}}$) en een slap membraan onder het dynamisch kritische punt ($\kappa < \kappa_{\text{krit}}^d$). De zwarte pijl geeft de transitie van een totaal gebonden ($\phi = 1$) naar een totaal ongebonden ($\phi = 0$) toestand aan. b) Vrije-energielandschap $f(\phi)$ langs de fractie van ongebonden bindingen $\phi \in [0, 1]$. Een minimum in het vrije-energielandschap correspondeert met de stabielste toestand. Bij het ontstaan van twee minima (zie middelste en rechter afbeelding) kan fasescheiding optreden. Dit resulteert in macroscopische domeinen met alleen gebonden respectievelijk ongebonden receptoren. c) In de thermodynamische limiet hangt de gemiddelde ontbindingstijd $\langle \tau_o \rangle$ alleen af van de grootste vrije-energiebarrière $\Delta f(\kappa)$. Boven het dynamisch kritische punt (I-II) wordt de gemiddelde ontbindingstijd van een volledig gebonden ($\phi = 1$) naar een ongebonden ($\phi = 0$) toestand gedomineerd door een entropische barrière Δf_s . Onder het dynamisch kritische punt (III) wordt de gemiddelde ontbindingstijd gedomineerd door een energetische barrière Δf_E . Precies op het dynamisch kritische punt ($\kappa = \kappa_{\text{krit}}^d$) is de barrière naar de volledig ongebonden toestand het kleinste, wat resulteert in de snelste ontbindingstijd $\langle \tau_o \rangle$.



Figuur 3. De gemiddelde ontbindingstijd en het dynamisch kritische punt. a) Doorsnedes van een celmembraan met zestien adhesiereceptoren met drie verschillende waarden voor de membraanstijfheid. Van links naar rechts: een stijf membraan boven het kritische punt ($\kappa > \kappa_{\text{krit}}$), een membraan tussen het kritische punt en het dynamisch kritische punt ($\kappa_{\text{krit}}^d < \kappa < \kappa_{\text{krit}}$) en een slap membraan onder het dynamisch kritische punt ($\kappa < \kappa_{\text{krit}}^d$). De zwarte pijl geeft de transitie van een totaal gebonden ($\phi = 1$) naar een totaal ongebonden ($\phi = 0$) toestand aan. b) Vrije-energielandschap $f(\phi)$ langs de fractie van ongebonden bindingen $\phi \in [0, 1]$. Een minimum in het vrije-energielandschap correspondeert met de stabielste toestand. Bij het ontstaan van twee minima (zie middelste en rechter afbeelding) kan fasescheiding optreden. Dit resulteert in macroscopische domeinen met alleen gebonden respectievelijk ongebonden receptoren. c) In de thermodynamische limiet hangt de gemiddelde ontbindingstijd $\langle \tau_o \rangle$ alleen af van de grootste vrije-energiebarrière $\Delta f(\kappa)$. Boven het dynamisch kritische punt (I-II) wordt de gemiddelde ontbindingstijd van een volledig gebonden ($\phi = 1$) naar een ongebonden ($\phi = 0$) toestand gedomineerd door een entropische barrière Δf_s . Onder het dynamisch kritische punt (III) wordt de gemiddelde ontbindingstijd gedomineerd door een energetische barrière Δf_E . Precies op het dynamisch kritische punt ($\kappa = \kappa_{\text{krit}}^d$) is de barrière naar de volledig ongebonden toestand het kleinste, wat resulteert in de snelste ontbindingstijd $\langle \tau_o \rangle$.

bij $\phi = 0$ zijn ze alle ongebonden. Tot slot bevat figuur 3c de grootste vrije-energiebarrière $\Delta f(\kappa)$ als een functie van de membraanstijfheid κ . We gaan stapsgewijs door de drie regimes en identificeren Δf . In regime I wordt Δf gedomineerd door een entropische barrière Δf_s (aangegeven met rood). In figuur 3c zien we dat deze barrière afneemt met afnemende stijf-

heid. Oftewel, hier heeft een slapper membraan een snellere ontbindingstijd, en daarom een lagere aviditeit. In regime II ontstaat een energetische barrière Δf_E (aangegeven met blauw). Deze barrière ontstaat op het eerdergenoemde kritische punt κ_{krit} . Echter, de entropische barrière is groter ($\Delta f_s > \Delta f_E$) en daarom zien we dezelfde trend als in regime I.

Kristian Blom wint NTvN-Prijsvraag

Ieder jaar daagt het NTvN jonge promovendi en pas-gepromoveerden uit: schrijf een artikel van maximaal tweeduizend woorden over je promotieonderzoek voor de lezers van ons tijdschrift. De uitdaging is flink, want het publiek is kritisch. Aan de ene kant zijn de beoogde lezers natuurkundigen en mag een zekere basiskennis verondersteld worden. Het mag dus niet te simpel zijn. Maar aan de andere kant: het zijn ook geen specialisten in het vakgebied dus een té wetenschappelijk betoog is ook uit den boze. Dit jaar hebben twee jonge vakgenoten de handschoen opgepakt. Interessant genoeg beschrijven beiden een onderzoek waarbij natuurkundige principes worden toegepast in een verwant vakgebied. De jury was onder de indruk van de

kwaliteit van de inzendingen, die allebei duidelijk hoogstaand en relevant onderzoek beschrijven. Beide auteurs weten goed over te brengen wat het probleem is waarin ze zich interesseren en welke natuurkundige principes ze gebruiken om dit probleem te kraken.

De eerste prijs gaat dit jaar naar de bijdrage van Kristian Blom, promovendus bij het Max Planck Instituut in Göttingen. In zijn artikel beschrijft hij hoe een bekend natuurkundig model – het Isingmodel – gebruikt kan worden om de bindingssterkte tussen cellen in weefsels te begrijpen. Het artikel is helder geschreven, toegankelijk voor een breed publiek en levert inspanning om de natuurkundige principes met woorden duidelijk te maken in plaats van met formules.

De tweede prijs gaat naar de eveneens waardevolle bijdrage van Gerbrand Koren, tegenwoordig universitair docent aan de Universiteit Utrecht. Zijn artikel behandelt de vraag hoe de zuurstofisotopendistributie in atmosferisch CO₂ een inkijkje kan geven in de lokale fotosynthese. Ook zijn artikel is helder en toegankelijk geschreven en geeft blijk van een goed besef van het maatschappelijk belang van het onderzoek.

Ten slotte vond de jury het jammer dat ze – bij gebrek aan inzendingen – geen derde prijs toe kon kennen. Laat dat een aanmoediging zijn voor volgend jaar!

De jury,
Tom Beumer, Eduard Driessen, Frank de Veld en Henk Vrielinck

Tussen regime II en III gebeurt iets speciaals: de entropische en energetische barrière zijn gelijk ($\Delta f_s = \Delta f_E$). Op dit punt heeft Δf een minimum en verandert zijn eerste afgeleide discontinu met de membraanstijfheid. Dit is een kenmerk van een kritisch punt! Maar dat hadden we toch al? Nee, dit kritische punt is niet gelijk aan de voorafgaande en noemen we het dynamisch kritische punt κ_{crit}^d . Een membraan met deze membraanstijfheid heeft de snelste gemiddelde ontbindingstijd en heeft daarom de laagst mogelijke aviditeit. Verdergaand in regime III is de energetische barrière groter dan de entropische barrière ($\Delta f_E > \Delta f_s$) en neemt de gemiddelde ontbindingstijd toe met afnemende stijfheid.

Biologische implicaties en slotwoord

Het dynamisch kritische punt biedt een mogelijke verklaring voor

het experimenteel waargenomen fenomeen waarbij tumorcellen de membraanstijfheid tot wel 70% verlagen door reorganisatie van het cytoskelet en zich naar secundaire locaties in het lichaam verspreiden [7]. Er wordt gespeculeerd dat bij verlaging van de membraanstijfheid de tumorcel het dynamisch kritische punt nadert. Hierdoor neemt de gemiddelde ontbindingstijd $\langle \tau_o \rangle$ van de tumorcel af, wat zorgt voor een snellere verspreiding door het lichaam. Ons theoretisch onderzoek [6] heeft aangetoond hoe collectieve effecten door hoogtefluctuaties van het celmembraan en de binding van adhesiereceptoren kunnen leiden tot een dynamisch kritisch punt in de gemiddelde ontbindingstijd van cellen. In de toekomst hopen we het dynamisch kritische punt experimenteel te verifiëren met behulp van atoomkrachtmicroscopie. Deze

theoretische en experimentele kennis kan, gebruikmakend van de juiste klinische methoden, leiden tot betere preventie van tumorcelverspreiding door middel van veranderingen in de membraanstijfheid.

REFERENTIES

- 1 R. Dimova, Recent Developments in the Field of Bending Rigidity Measurements on Membranes, *Adv. Colloid Interface Sci.* **208**, 225 (2014).
- 2 T. Speck, E. Reister en U. Seifert, Specific Adhesion of Membranes: Mapping to an Effective Bond Lattice Gas, *Phys. Rev. E* **82**, 021923 (2010).
- 3 H., Jinglei, R. Lipowsky en T. R. Weikel, Binding constants of membrane-anchored receptors and ligands depend strongly on the nanoscale roughness of membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **110**-38, 15283-15288 (2013).
- 4 E. Ising, Beitrag zur Theorie des Ferromagnetismus, *Zeitschrift für Physik*, Band **31**, S. 253-258 (1925).
- 5 A.-S. Smith et al., Force-induced growth of adhesion domains is controlled by receptor mobility, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**-19, 6906-6911 (2008).
- 6 K. Blom en A. Godec, Criticality in Cell Adhesion, *Phys. Rev. X* **11**, 3, 031067 (2021).
- 7 V. Swaminathan et al., Mechanical Stiffness Grades Metastatic Potential in Patient Tumor Cells and in Cancer Cell Lines, *Cancer Res.* **71**, 5075 (2011).