

Biologie in tijden van

Tussen lab en laptop

Hoe bepaalt het DNA de groei en vorm van plant en dier? Wat als er een fout zit in het DNA, een mutatie? Zulke vragen houden mij en mijn onderzoeksgroep bezig op het Centrum Wiskunde & Informatica (CWI) in Amsterdam en op het Mathematisch Instituut in Leiden. Het antwoord wordt vaak gezocht in de moleculaire biologie. Technieken zoals deep sequencing, microarrays, polymerasekettingreacties, proteomics en metabolomics maken het mogelijk tot in groot detail de gen-netwerken, eiwitopbouw en metabole paden van een organisme in kaart te brengen. Maar begrijpen we ook echt meer van het functioneren van een organisme door alles te meten en de resultaten op te slaan in databestanden? Sommige onderzoekers beweren dat echt begrip in het tijdperk van de Big Data overbodig is geworden. Dat kan best zo zijn, maar ik wil écht doorgronden hoe iets zit.

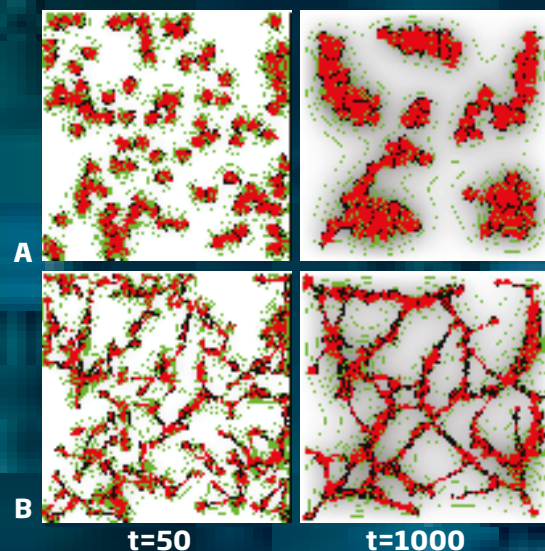
Met mijn groep maak ik computermodellen, maar dat kan niet zonder interactie met laboratoria. Om een biologisch systeem beter te begrijpen, toetsen we samen theorie en praktijk: de *systeembio-logiecyclus* [1]. Eerst stellen we een mechanistisch model op en voeren we simulaties uit. Het lab toetst vervolgens de voorspellingen die uit de modellen volgen. De experimenten brengen hiaten in de kennis van het systeem aan licht. Het model moet dus worden verfijnd, waarna het lab de theoretische resultaten opnieuw toetst.

Veel systeembio-logische studies beginnen met het meten van genactiviteit en het in kaart brengen van eiwitinteracties. Zo kan bijvoorbeeld een stelsel differentiaalvergelijkingen of statisch netwerkmodel worden opgesteld. Zoals je je kunt verliezen in de omvang van Big Data, is het ook bij simulatiemodellen zaak het overzicht te behouden. Het gevaar van een astronomisch groot model ligt op de loer, als je een heel organisme zou modelleren. Immers, een organisme telt reusachtig veel moleculen— $3,72 \times 10^{13}$ cellen in het menselijk lichaam [2] met 6×10^9 eiwitmoleculen per cel [3] van zo'n 30.000 soorten per cel.

Evolutionair trucje

Toch is het mogelijk een computermodel te bouwen van een meercellig organisme, want een dier of plant is natuurlijk geen zak met moleculen. Er is hiërarchie: moleculen vormen cellen, cellen vormen weefsels, weefsels vormen organen, organen vormen een organisme. Liever dan het opbouwen van steeds complexere en sterker verknoopte netwerken, gebruikt de evolutie een handig 'trucje': er ontstaan modules die als geheel worden gerepeteerd en gewijzigd. Zodra zich min of meer zelfstandig voortplantende eenheden

Door **Roeland Merks**



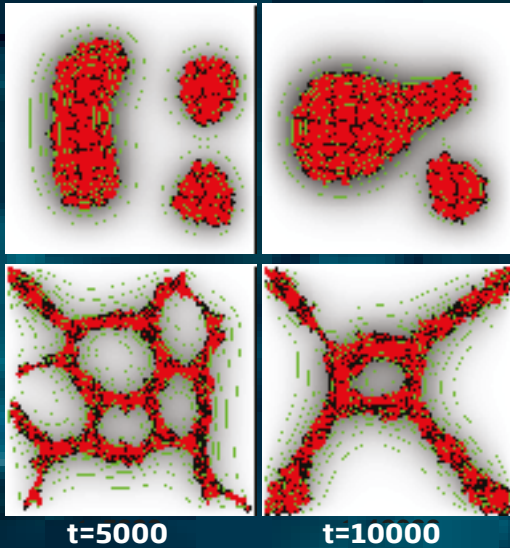
Figuur 1: Simulatie van cellen die elkaar aantrekken met een groeifactor. A. Cirkelvormige cellen; B. Langgerekte cellen. Cellen weergegeven in rood, celgrenzen zwart; grijstinten: concentratie groeifactor; groene curves: contourlijnen van concentratie groeifactor. Tijd in Monte Carlo steps, de gebruikelijke tijdstap in Cellular-Potts-simulaties. Voor details zie Ref. [5].

hebben gevormd (een RNA-molecuul, een eiwit, een cel, een weefsel, een organisme), hebben ze de neiging te gaan samenwerken. Zo organiseren ze zich tot een nieuwe eenheid die ook weer min of meer zelfstandig opereert [4].

Bij een ziekte als kanker gaat het mis: dan veranderen mutaties in het DNA de cel zodanig dat ze de 'goede' cellen kunnen wegconcurreren. De cel opereert enerzijds als 'individu' in competitie met de andere cellen, maar opereert anderzijds ook in dienst van het geheel: het organisme of de kolonie. Zo'n hybride tussen 'geheel' en 'onderdeel van' is volgens Arthur Koestler een holon. In zijn boek *The Ghost in the Machine* (1967) stelt deze Hongaars-Amerikaanse schrijver en filosoof dat organisaties, onze maatschappij, maar ook ons lichaam opgebouwd zijn uit een hiërarchie van holons. Omdat de holons grotendeels zelfstandig opereren, kunnen de hogere schalen functioneren zonder weet te hebben van, of macht te hebben over alle details op de lagere schalen

Er is hiërarchie: moleculen vormen cellen, cellen vormen weefsels, weefsels vormen organen, organen vormen een organisme.

Big Data



Mijn vakgebied, multischaal mathematische biologie, richt zich op de interactie tussen die organisatieniveaus. De meerschakelige, hiërarchische structuur van planten en dieren komt goed van pas om ze beter te begrijpen. In plaats van een monsterlijk model met miljoenen interacterende eiwitten en genen, kunnen we telkens de schaal kiezen die ons interesseert, en het bijbehorende holon: een molecuul als we geïnteresseerd zijn in de dynamiek van een signaaltransductienetwerk, de cel voor een beter begrip van ontwikkelingsbiologie. Dan introduceren we zo veel detail als nodig is om het gedrag te beschrijven van het holon, inclusief de interacties met de hoger of lager gelegen holons.

Telkens kies je de relevante schaal. Zo beschrijft een model van embryonale ontwikkeling centraal het gedrag van de cellen: de celdeling, de adhesiekrachten aan andere cellen, hun beweging, de krachten die ze uitoefenen op elkaar, enzovoorts. Voor een vraag over het effect van een medicijn op een cel is het molecuul een betere centrale schaal.

Wondgenezing en kanker

Hoe ontwikkel je praktisch een model van groei en vorm? In mijn groep hebben we onder meer simulatiemodellen gemaakt van de vorming van haarvaten, de kleinste bloedvaatjes. Deze angiogenese speelt zich je hele leven af, bijvoorbeeld bij wondge-

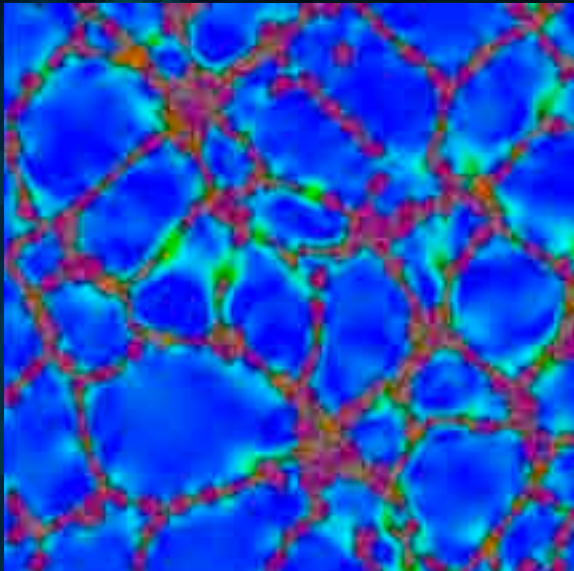
De kracht op elk punt op het celmembraan is grofweg proportioneel aan de afstand tot de centroide van de cel. **Deze krachten rekken de omringende gel uit.**

nezing, maar ook bij kanker. Groeifactoren uit tumoren stimuleren cellen in de binnenbekleding van de bloedvaten, de endotheelcellen, om uit het bloedvat te kruipen. Samen met andere cellen hergroeperen ze tot een nieuw zijvat dat de tumor voorziet van zuurstof en voedsel. De hoop is dat we dit mechanisme lam kunnen leggen. Maar de vele celtypen, signaalstoffen en groeifactoren maken angiogenese haast te complex om in detail te doorgronden. Gelukkig valt het probleem te vereenvoudigen. In celculturen organiseren endotheelcellen zich zelfstandig tot een bloedvatachtig netwerk. Om te ontrafelen welke regels ze hierbij volgen, ontwikkelen we in de geest van Koestlers holons 'agenten'. Zij gedragen zich als een autonome endotheelcel en volgen tegelijkertijd 'instructies' van andere cellen op. Welke groeifactoren scheiden de cellen af, hoe sterk kleven ze aan buurcellen en aan de gel waarin ze leven, hoe verandert hun gedrag onder invloed van andere cellen? De output van zo'n model is het collectieve celgedrag dat voortkomt uit het gedrag van de individuele cellen en hun interacties.

Meestal gebruiken we het Cellular Potts model [6]. Dit roostermodel is uitermate geschikt voor beschrijving van de amoëboïde beweging van cellen, door middel van uitstulping en intrekking van het membraan. In een eerste model trekken cellen elkaar aan door een groeifactor af te scheiden. Een simulatie is te zien in Figuur 1A). Hier vormen de cellen geen netwerken, maar celklompjes. Blijkbaar ontbreekt er dus een belangrijk mechanisme. Discussies met experimenteel biologen en literatuurstudies suggereerden talloze extra aannames, waarvan ik er hier twee noem.

Lijm in het lichaam

In de eerste versie van ons model waren de endotheelcellen cirkelvormig, maar de collega's in het lab wezen erop dat ze eerder langgerekt zijn. Als we hetzelfde computermodel opnieuw draaien met zulke cellen, vormen ze wel een netwerkstructuur (Figuur 1B en Ref. [5]). Maar is het wel zo dat endotheelcellen elkaar aantrekken met groeifactoren? Hier is andermaal de hulp van het lab noodzakelijk. De groep van Cynthia Reinhart-King aan Cornell University liet zien dat biomechanica een grote rol speelt. In een celcultuurmodel van bloedvatvorming onderzochten ze rol van de 'lijm' (extracellulaire matrix) die cellen in het lichaam aan elkaar plakt. De stijfheid van die gel bepaalt mede of ze netwerken vormen. Op zoek naar een mogelijke verklaring hebben we een nieuw model ontwikkeld. Cellen oefenen een contractiekracht uit op de gel. De kracht op elk punt op het celmembraan is grofweg proportioneel aan de afstand tot de centroide



Figuur 2: Vasculair netwerk gevormd door mechanische celcommunicatie. Zwarte lijnstukjes geven de orientatie van de grootste rek weer. De kleurgradient geeft de grootte van de rek weer, met rood de hoogste rek. Voor details zie Ref. [7].

van de cel. Deze krachten rekken de omringende gel uit. Cellen hebben de neiging zich langs de rekricting in de gel te bewegen en uit te strekken. We hebben deze regels gesimuleerd in een hybride tussen het Cellular Potts model (voor de celbeweging) en een eindige-elementenmodel (voor het simuleren van een elastische gel). Hieruit bleek dat de biomechanische celgedragsregels voor interactie tussen cellen en de omliggende gel voldoende zijn om de cellen zich te laten organiseren tot netwerken (Figuur 2 en Ref. [7]).

Terug naar de genetica

Deze modellen reproduceren bloedvatachtige structuren, zonder de onderliggende genetica in detail te beschrijven. Dat geeft inzicht in collectief celgedrag. Tegelijk beantwoorden de modellen mijn centrale vraag: hoe reguleert het DNA groei en vorm? De celgedragsregels zijn een gevolg van de genetische regulatie van de cellen samen met de biofysica. Hierdoor kan het effect van een genetische of andere biochemische verandering worden begrepen door eerst het effect op het celgedrag te onderzoeken. Zo hebben experi-

menteel biologen ontdekt dat het blokkeren van een cruciale groeifactor (VEGF) de langwerpige vorm van endotheelcellen onderdrukt.

In ons model en in het lab resulteert dat in losse clusters van meer afgeronde cellen (Figuur 1A en Ref. [5]). Ook kan een cel onder invloed van een moleculair signaal van een buurcel andere biofysische eigenschappen aannemen. In dat geval moeten we in groter detail de onderliggende schaal modelleren: de genetische regulatie. Een voorbeeld is uitgewerkt door Margriet Palm, die in september in Leiden is gepromoveerd [8]. Tijdens bloedvatgroei *in vivo* zijn, anders dan in de hierboven besproken celculturemodellen, twee soorten endotheelcellen te onderscheiden: de tipcellen, die de voorhoede van een nieuw bloedvat vormen, en de stalkcellen, die de tipcellen volgen en de uiteindelijke bloedvatspruit vormen.

Welke van de endotheelcellen de tipcel vormt en welke de stalkcel, wordt bepaald door een signaalnetwerk rond de membraangebonden eiwitten *Delta* en *Notch*. Via dit netwerk voorkomt de tipcel dat zijn buuren ook de rol van tipcel aannemen. Dit lateraalinhibiitiemechanisme heeft Margriet Palm in het model opgenomen. Ze draaide duizenden simulaties van het model, waarin ze de eigenschappen van de tipcellen varieerde. Zo kwamen we erachter welke eigenschappen maken dat tipcellen daadwerkelijk aan het uiteinde van de spruit komen te liggen, om zo de vorm van het bloedvatnetwerk bij te sturen. En in het lab blijkt die voorspelling aardig te kloppen. **!**

Referenties

- [1] Hiroaki Kitano. *Systems Biology: A Brief Overview*. *Science (New York, NY)*, 295:1662-1664, 2002.
- [2] Eva Bianconi, Allison Piovesan, Federica Facchin, Alina Beraudi, Raffaella Casadei, Flavia Frabetti, Lorenza Vitale, Maria Chiara Pelleri, Simone Tassani, Francesco Piva, Soledad Perez-Amodio, Pierluigi Strippoli, and Silvia Canaider. An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol*, 40(6):463-471, November 2013.
- [3] Ron Milo. What is the total number of protein molecules per cell volume? A call to rethink some published values. *Bioessays*, 35(12):1050-1055, September 2013.
- [4] John Maynard Smith and Eörs Szathmáry. *The Major Transitions in Evolution*. Oxford University Press, January 1995.
- [5] R M H Merks, Sergey V Brodsky, Michael S Goligorsky, Stuart A Newman, and James A Glazier. Cell elongation is key to in silico replication of in vitro vasculogenesis and subsequent remodeling. *Dev. Biol.*, 289(1):44-54, 2006.
- [6] François Graner and James A Glazier. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model. *Phys. Rev. Lett.*, 69(13):2013-2016, 1992.
- [7] René F M van Oers, Elisabeth G Rens, Danielle J LaValley, Cynthia A Reinhart-King, and Roeland M H Merks. Mechanical Cell-Matrix Feedback Explains Pair-wise and Collective Endothelial Cell Behavior In Vitro. *PLoS Comput. Biol.*, 10(8):e1003774, August 2014.
- [8] Margriet M Palm. *High-throughput simulation studies of angiogenesis: Reverse engineering the role of tip cells and pericytes in vascular development*. PhD thesis, Leiden University, September 2014.

Over de auteur: Roeland Merks

Roeland Merks is hoogleraar multischaal wiskundige biologie aan het Mathematisch Instituut in Leiden. Hij is senioronderzoeker bij het Centrum Wiskunde & Informatica (CWI) in Amsterdam en coördineert daar het thema Life Sciences. Zijn groep onderzoekt onder meer de ontwikkeling van bloedvaten, de vorming van plantenbladeren en de darmflora. Op vrijdag 27 februari 2015 zal hij zijn oratie uitspreken.

✉ Roeland.Merks@cwi.nl

