

Advancing the cell culture landscape

Citation for published version (APA):

Vermeulen, S. A. (2020). *Advancing the cell culture landscape: the instructive potential of artificial and natural geometries*. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20200904sv>

Document status and date:

Published: 01/01/2020

DOI:

[10.26481/dis.20200904sv](https://doi.org/10.26481/dis.20200904sv)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

This thesis investigates how physical cues influence cell behavior in the culture dish. Many surface structures exist, which complicates the identification of an optimal physical environment for a specific cellular phenotype. Therefore, high-throughput platforms enable the screening of multiple surface designs to find an optimal cell culture environment for a specific phenotype. By utilizing the TopoChip, which contains 2176 unique micro-topographies, we identified structures that support the phenotype of tenocytes, the primary cell type of the tendon. Similarly, we also found this to be true for mesenchymal stem cells (MSCs), which experience an activation of tendon-related genes upon contact with certain micro-topographies. This allows micro-topographies to be considered for the differentiation of MSCs towards tenocytes. Of interest, we found these findings related to a sensitization of the TGF- β signaling pathway. Furthermore, microarray analysis of MSCs grown on micro-topographies allowed us to gain insights into the biomechanical pathways that are activated. This led us to identify small molecules that mimic the effect of micro-topographies on TGF- β signaling. The implication of this might be that biomechanical stimuli can be translated in a soluble form for clinical applications as well. Similar as to micro-topographies, actin organization was also found to be a driving factor in eliciting the expression of *SRF* and *EGR-1* on surfaces where RGD presentation was varied.

Next to determining that micro-topographies influence TGF- β signaling and a tenogenic phenotype, we found that the nuclear confinement elicited by micro-topographies coincides with epigenetic and nucleoli alterations. These findings were associated with a quiescent-like phenotype, as evidenced by a reduction in proliferation and a prolonged multipotency.

Although micro-topographies demonstrate their usefulness for implementation in a tissue culture environment, these structures only encompass a fraction of the total design space possibilities. We, therefore, chose to expand the topographical design space of the TopoChip by utilizing natural surface architectures. Of interest, these structures elicit a distinct phenotype in MSCs compared to MSCs grown on regular micro-topographies. In the future, designing platforms that further expand the design space will be of great interest for novel research and commercialization opportunities.

Samenvatting

Dit proefschrift onderzoekt hoe oppervlaktestructuren het cel gedrag in de kweekschotel beïnvloeden. Er bestaat een grote diversiteit aan oppervlaktestructuren, wat de identificatie van een optimale fysieke omgeving voor een specifiek cellulair fenotype bemoeilijkt. Daarom vergemakkelijken platforms die toelaten om veel verschillende ontwerpen tegelijkertijd te screenen het vinden van een optimale culturomgeving voor een bepaald fenotype. Door gebruik te maken van de TopoChip, die 2176 unieke microtopografieën bevat, hebben we structuren geïdentificeerd die het fenotype van tenocyten, het primaire celtype van de pees, ondersteunen. Bovendien vonden we dat dit ook gold voor mesenchymale stamcellen (MSCs), die een activering van pees gerelateerde genen ervaren bij contact met bepaalde microtopografieën. Hierdoor kunnen micro-topografieën worden overwogen voor de differentiatie van MSCs naar tenocyten. Een interessante bevinding was dat deze resultaten verband hielden met een sensibilisatie van de TGF- β -signaleringsroute. Door gebruik te maken van een microarray-analyse van MSCs die zijn gegroeid op micro-topografieën, heeft dit ons in staat gesteld inzicht te krijgen in de biomechanische signaal routes die worden geactiveerd. Dit bracht ons ertoe om biomoleculen te identificeren die het effect van microtopografieën op TGF- β -signaling nabootsen. Een mogelijke implicatie hiervan is dat biomechanische stimuli ook in oplosbare vorm geactiveerd kan worden, wat interessant kan zijn voor klinische toepassingen. Zoals bij micro-topografieën bleek de organisatie van actine ook een drijvende factor te zijn bij het opwekken van de expressie van SRF en EGR-1 op oppervlakken met verschillende RGD-presentaties.

Naast het vaststellen dat microtopografieën TGF- β -signaling en dus een tenocyt fenotype beïnvloeden, ontdekten we dat de door microtopografie geïnduceerde verkleining van de nucleus samenvalt met epigenetische veranderingen en een verminderde aanwezigheid van nucleoli. Deze bevindingen werden geassocieerd met een afname van proliferatie en een langere multipotentie duur.

Hoewel microtopografieën hun nut aantonen om gebruikt te worden in een weefselkweekomgeving, omvatten deze structuren slechts een fractie van de alle ontwerpruimtemogelijkheden. We hebben er daarom voor gekozen om de topografische ontwerpruimte van de TopoChip uit te breiden door gebruik te maken van natuurlijke oppervlakte architecturen. Interessant is dat deze structuren ook bij MSCs een ander fenotype opwekken in vergelijking met MSCs die op reguliere microtopografieën worden gekweekt. In de toekomst zullen het ontwerpen van platforms die de ontwerpruimte verder uitbreiden, van groot belang zijn voor nieuwe onderzoeks- en commercialisatiemogelijkheden.