

Abstract

Microtubules are, next to actin filaments, one of the main components of the cytoskeleton of eukaryotic cells. The static and dynamical properties are essential for numerous intracellular processes. Their characteristic polymerization behaviour, called *dynamic instability*, is the key factor of the temporal and spatial organization of the microtubule cytoskeleton. In dynamic instability, microtubules stochastically alternate between phases of polymerization and phases of fast depolymerization. Polymerizing microtubules can generate forces in the piconewton range, which are used in positioning of cellular organelles or chromosome separation. The interplay of dynamic instability and force generation leads to complex polymerization kinetics. In this thesis we investigate the force generation of polymerizing microtubules in the presence of dynamic instability. We establish a coarse-grained model for the polymerization dynamics of single microtubules and include realistic force-velocity relations and velocity-dependent catastrophe models. In the first part of this thesis, the polymerization dynamics of single microtubules are investigated, based on the coarse-grained model, in three different scenarios, which mimic typical cellular environments. The scenarios are as follows: (i) A single microtubule is confined by a rigid and fixed wall, (ii) a single microtubule polymerizes under constant force, and (iii) a single microtubule polymerizes against an elastically coupled obstacle. For all three scenarios we calculate stochastic length distributions analytically and characterize the polymerization dynamics as a function of the growth parameters, like the tubulin concentration, the rescue rate or the obstacle stiffness.

In scenario (i) we introduce a realistic model for wall-induced catastrophes and find exponentially increasing or decreasing stationary length distributions. In scenario (ii) we determine the critical force f_c which provides the transition from unbounded to bounded growth. The critical force is smaller than the stall force and increases logarithmically with the tubulin concentration and rescue rate. In scenario (iii) we calculate the polymerization force for growth against the elastic obstacle in the absence and in the presence of rescue events. For a vanishing rescue rate the maximal polymerization force grows logarithmically with the tubulin concentration and is always smaller than the stall force. In the presence of rescue events, we analytically calculate steady-state length distributions as a function of the growth parameters, and the average polymerization force. In the steady state the average polymerization force equals the critical force f_c for growth under constant force. In addition, we establish a dynamical mean field theory and compare mean-field results for the average polymerization force to full stochastic calculations. Based on the dynamical mean field theory, we inves-

tigate the relaxation dynamics of a single microtubule if growth parameters are perturbed.

The relaxation dynamics into the new steady state is governed by an exponential decay with a characteristic time scale, which is a function of the perturbed growth parameters.

Finally we show that results are robust with respect to changes in the force-velocity relation and the catastrophe model.

In the second part of this thesis, we extend the single microtubule model to bundles of parallelly growing microtubules and investigate the polymerization dynamics of microtubule bundles growing against an elastically coupled obstacle. This scenario is close to the *in vitro* experiments by Laan *et al.* We establish a dynamical mean field theory, characterize the cooperative polymerization dynamics and the generated force, as a function of the growth parameters and the obstacle stiffness. In the absence of rescue events and a stiff obstacle, the maximal polymerization force growth linear in the number of microtubule within the bundle. This is in agreement with results from *in vitro* experiments by Laan *et al.* For a soft obstacle, we find a crossover to a logarithmic dependency on the microtubule number. For a non-vanishing rescue rate and a soft obstacle, we find an oscillatory polymerization dynamics, governed by *collective catastrophes* and *collective rescues*. The steady-state polymerization force oscillates around its average value and is a linear function of the microtubule number and the tubulin concentration. Finally we investigate the validity of the dynamical mean field theory, based on semi-stochastic calculations.

Zusammenfassung

Mikrotubuli sind, neben Actinfilamenten, der Hauptbestandteil des Zytoskeletts eukaryotischer Zellen. Die statischen und dynamischen Eigenschaften von Mikrotubuli sind existenziell für viele zellinterne Prozesse. Ihr charakteristisches Polymerisationsverhalten, die *dynamische Instabilität*, ist von zentraler Bedeutung für die zeitliche und räumliche Organisation des Mikrotubuli-Zytoskeletts. Unter der dynamischen Instabilität versteht man das stochastische Alternieren von Phasen mit moderater Polymerisation und Phasen schneller Depolymerisation. Polymerisierende Mikrotubuli können Kräfte im Piconewton-Bereich erzeugen, welche zur Positionierung von Zellorganellen oder zur Trennung von Chromosomen genutzt werden. Das Zusammenspiel von dynamischer Instabilität und Krafterzeugung bewirkt eine komplexe Polymerisationsdynamik.

In dieser Arbeit untersuchen wir die Krafterzeugung durch polymerisierende Mikrotubuli unter dem Einfluss der dynamischen Instabilität. Dazu etablieren wir ein idealisiertes Polymerisationsmodell für einzelne Mikrotubuli, welches realistische Kraft-Geschwindigkeits- und geschwindigkeitsabhängige Katastrophenmodelle beinhaltet. Im ersten Teil dieser Arbeit wird die Polymerisationsdynamik einzelner Mikrotubuli, anhand des idealisierten Modells, in drei unterschiedlichen Szenarien untersucht, welche ein typisches zelluläres Umfeld widerspiegeln. Die drei Szenarien sind: (i) Ein einzelner Mikrotubulus polymerisiert in einer durch starre Wände begrenzten Umgebung, (ii) ein einzelner Mikrotubulus polymerisiert unter einer konstanten Kraft und (iii) ein einzelner Mikrotubulus polymerisiert gegen ein elastisches Hindernis, welches eine längenabhängige Kraft erzeugt.

Für alle drei Szenarien bestimmen wir analytische Ausdrücke für die stochastischen Längenverteilungen und charakterisieren die Polymerisationsdynamik in Abhängigkeit der Wachstumsparameter, wie der Tubulinkonzentration, der Rettungsrate und der Härte des elastischen Hindernisses. In Szenario (i) präsentieren wir ein realistisches Modell für Katastrophen, welche durch die starren räumlichen Begrenzungen erzeugt werden. Wir finden exponentiell steigende oder fallende stationäre Längenverteilungen. In Szenario (ii) bestimmen wir die kritische Kraft F_c , welche den Übergang von ungebundenem zu gebundenem Wachstum bestimmt. Die kritische Kraft ist kleiner als die stall force und wächst logarithmisch mit der Tubulinkonzentration. In Szenario (iii) berechnen wir die mittlere Kraft, die ein einzelner Mikrotubulus erzeugt. In Abwesenheit von Rettungen wächst die maximale Polymerisationskraft logarithmisch mit der Tubulinkonzentration und ist kleiner als die sogenannte "stall force" F_{stall} , bei der die Wachstumsgeschwindigkeit verschwindet. Für eine von Null verschiedene Rettungsrate bestimmen wir

analytische Ausdrücke für die stationären Längenverteilungen und die mittlere Kraft als Funktionen der Wachstumsparameter. Im stationären Zustand ist die mittlere Kraft gleich der kritischen Kraft F_c . Zusätzlich zu stochastischen Berechnungen etablieren wir eine dynamische mean field Theorie und vergleichen Resultate aus beiden Theorien miteinander. Basierend auf der dynamischen mean field Theorie, untersuchen wir das Relaxationsverhalten einzelner Mikrotubuli, nachdem Wachstumsparameter gestört wurden. Wir finden eine exponentielle Relaxationsdynamik mit einer charakteristischen Zeitskala, welche durch die gestörten Wachstumsparameter dominiert wird. Zum Abschluss zeigen wir, dass die erhaltenen Resultate robust gegenüber Änderungen in der Kraft- Geschwindigkeits-Relation und des Katastrophenmodelles sind.

Im zweiten Teil dieser Arbeit untersuchen wir die Polymerisationsdynamik von Bündeln aus parallelen Mikrotubuli, die gegen ein elastisches Hindernis wachsen. Dieses Szenario ähnelt den *in vitro* Experimenten, die von Laan *et al.* durchgeführt wurden. Wir etablieren eine dynamische mean field Theorie, charakterisieren die kooperative Polymerisationsdynamik und bestimmen die erzeugte Kraft als Funktion der Wachstumsparameter und der Elastizität des Hindernisses. In Abwesenheit von Rettungen und für ein steifes Hindernis, steigt die maximale Polymerisationskraft linear mit der Anzahl an Mikrotubuli in Übereinstimmung mit Resultaten von Laan *et al.* Für ein weiches Hindernis findet ein Übergang zu einer logarithmischen Abhängigkeit statt. Für eine von Null verschiedene Rettungsrate und ein weiches Hindernis finden wir eine oszillatorische Polymerisationsdynamik, welche durch *kollektive Katastrophen* und *kollektive Rettungen* dominiert wird. Im stationären Zustand oszilliert die Polymerisationskraft stabil um einen Mittelwert und wächst linear mit der Anzahl an Mikrotubuli und der Tubulinkonzentration. Zum Abschluss untersuchen wir die Gültigkeit der dynamischen mean field Theorie anhand semi-stochastischer Rechnungen.