

Секция «Молекулярная и клеточная биоинженерия и биоинформатика»

Разработка модельной системы для изучения жёсткости на лидирующем крае фибробластов методом наноиндентации

Научный руководитель – Соколова Ольга Сергеевна

Вахрушева Анна Владимировна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: vakhrusheva.ann@yandex.ru

Механические свойства клеток, в частности жёсткость, ответственны за поддержание формы клеток, их подвижность и реакцию на различные биофизические и биохимические воздействия. Кроме того, многие биологические процессы, такие как рост, дифференцировка, миграция, даже апоптоз характеризуются изменением формы клеток. Таким образом, какое-либо отклонение в механических свойствах может свидетельствовать о нарушении функций клетки или даже о развитии болезней [1,2].

Данные о жёсткости клеток используются в качестве биомаркёра для идентификации раковых клеток на ранних стадиях, так как они более мягкие, чем здоровые. Большая эластичность и меньшая адгезивность раковых клеток увеличивает их подвижность, способность деформироваться и помогает мигрировать во время метастазов [3,4]. Таким образом, между измерением жёсткости и подвижностью прослеживается определённая корреляция: чем мягче клетка, тем она подвижнее. Механические свойства клеток зависят от реорганизации цитоскелета, в том числе и промежуточных филаментов, к которым относится виментин, поддерживающий клеточную целостность и обеспечивающий устойчивость клетки к стрессу [5].

Измерение жёсткости (модуля Юнга) клеток проводится методом наноиндентации с помощью атомно-силового микроскопа. Обычно клетки располагаются либо монослоем, либо одиночными округлыми клетками на ровном субстрате и продавливаются модифицированными зондами, имеющими на конце стеклянную микросферу диаметром ~ 9 мкм. Для того чтобы измерить жёсткость на лидирующем крае клетки, были использованы специальные подложки из лавсана, покрытые термопластиком, с бороздками периодичностью 1,6 мкм и глубиной 350 нм. На данных подложках клетки росли вытянуто преимущественно вдоль бороздок с хорошо детектируемым лидирующим краем.

В отличие от измерения на ровной поверхности, было очевидно, что в случае с подложками их рельеф может повлиять на результаты измерения жёсткости клеток. В связи с этим были проведены дополнительные эксперименты, показавшие, что вариации рельефа не влияют на измеряемый модуль Юнга. Таким образом, разработанный подход позволяет измерять жёсткость клеток именно на лидирующем крае. В ходе дальнейших экспериментов были исследованы жёсткости крысиных и мышинных фибробластов с мутантным виментином, немутантным виментином и при его отсутствии.

Работа поддержана грантом РНФ (14-14-00234).

Источники и литература

- 1) I. Dulińska, M. Targosz, et al. Stiffness of normal and pathological erythrocytes studied by means of atomic force microscopy // J. Biochem. Biophys. Methods, 66. 2006. P. 1–11.
- 2) J.L. Maciaszek, B. Andemariam, G. Lykotrafitis. Microelasticity of red blood cells in sickle cell disease // The Journal of Strain Analysis for Engineering Design. V. 46(5). 2011. P. 368-379.
- 3) Q.S. Li, G.Y.H. Lee, et al. AFM indentation study of breast cancer cells // Biochemical and Biophysical Research Communications. V. 374(4). 2008. P. 609-613.
- 4) W. Xu, R. Mezencev, et al. Cell Stiffness Is a Biomarker of the Metastatic Potential of Ovarian Cancer Cells // PLOS One. 2012.
- 5) G.V. Tolstonog, R.L. Shoeman, et al. Role of the Intermediate Filament Protein Vimentin in Delaying Senescence and in the Spontaneous Immortalization of Mouse Embryo Fibroblasts // DNA and Cell Biology. V. 20(9). 2004. P. 509-529.