

Определение структуры и механических свойств цитоскелета раковых и нормальных клеток

Ю.М. Ефремов, А.А. Докрунова, Д.В. Багров, О.В. Воронцова, О.С. Соколова

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, г. Москва, Ленинские горы, д.1 стр.73

Строение и регуляция актинового цитоскелета в раковых и нормальных клетках сильно отличаются, что, возможно, связано с изменениями в активности актин-связывающих белков (Jordan and Wilson, 1998). В результате, раковые клетки более деформируемы, чем нормальные, и примерно на 70% мягче (Cross et al, 2007). Предположительно, особые механические свойства раковых клеток играют важную роль в метастатических процессах и могут быть использованы как маркер метастатического потенциала (Guck et al, 2005). В процессе инвазии происходит адгезия раковой клетки к базальной мембране, локальный протеолиз внеклеточного матрикса и дальнейшая миграция клетки в ткань, для чего требуется активное изменение структуры цитоскелета (Friedl and Wolf, 2003).

Мы исследовали эффект инактивации одного из факторов нуклеации актина – формина – на модуль Юнга раковых и нормальных клеток. В качестве раковых были использованы эпителиальные клетки рака простаты DU-145 и PC3, в качестве нормальных – клетки Vero из эпителия почки африканской зеленой марышки. Для измерения модуля Юнга использовали метод атомно-силовой микроскопии (АСМ) с кантилеверами, модифицированными микросферами. Это позволяло лучше контролировать геометрию зонда и получать значения модуля Юнга, усредненные по относительно большой контактной площадке.

Измеренный нами модуль Юнга клеток Vero составляет ~2 кПа, что хорошо соответствует данным предыдущих исследований нераковых клеток (Faria et al, 2008). У раковых клеток DU-145 и PC3 модуль Юнга значительно меньше (на 40-42%). После инкубации клеток Vero с 2 мкМ раствором ингибитора формина SMIFH2 в течение 14 часов, их модуль Юнга уменьшился на ~30%. С помощью конфокальной микроскопии (окраска родамин-фаллоидином) было выявлено, что в клетках, подвергшихся воздействию SMIFH2, число актиновых филаментов уменьшилось и они, в основном, расположены у основания клетки. У этих клеток также наблюдалось увеличение числа мелких филоподий. Ранее было показано, что экспрессия формина в тканях рака простаты повышена по сравнению с нормальными клетками (Sokolova et al, 2011). Принимая во внимание тот факт, что уменьшение количества фибриллярного актина часто наблюдается в раковых клетках, мы предполагаем, что формин в клетках рака простаты может быть инактивирован. Инактивация нуклеаторов актина, по-видимому, ведет к изменению эластических свойств раковых клеток.

1. MA Jordan, L Wilson Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy *Current Opinion in Cell Biology* 10(1), 123-130 (1998)
2. SE Cross, YS Jin, J Rao, JK Gimzewski Nanomechanical analysis of cells from cancer patients *Nature Nanotechnology* 2, 780 – 783 (2007)
3. J Guck, S Schinkinger, B Lincoln, F Wottawah S Ebert, M Romeyke, D Lenz, HM Erickson, R Ananthakrishnan, D Mitchell, J Käs, S Ulvick, C Bilby Optical Deformability as an Inherent Cell Marker for Testing Malignant Transformation and Metastatic Competence *Biophysical Journal* 88(5), 3689-3698 (2005)
4. P Friedl, K Wolf Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms *Nature Reviews Cancer* 3, 362-374 (2003)
5. EC Faria, N Ma, E Gazi, P Gardner, M Brown, NW Clarke, R D. Snook Measurement of elastic properties of prostate cancer cells using AFM *Analyst* 133, 1498-1500 (2008)