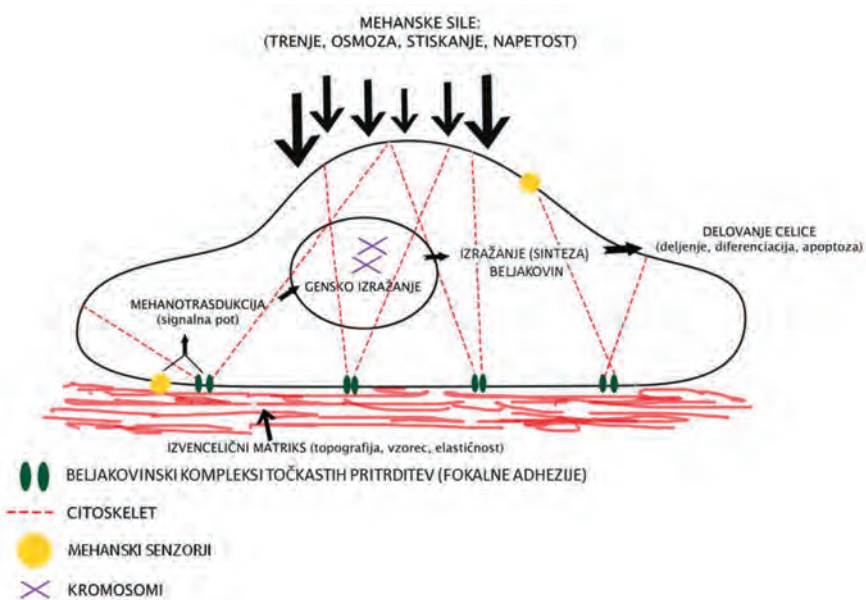


Mehanske lastnosti celic kot diagnostični označevalci v medicini

Špela Zemljič Jokhadar, Mirjana Liović

Celice so nenehno izpostavljene številnim mehanskim dejavnikom, med katere štejemo napetost, strižne sile, torzijo, upogibanje in sile, nastale zaradi povezav med celicami kot tudi med celicami in podlago. Te obremenitve zaznajo s specializiranimi senzori, ki se odzivajo na mehanske spremembe.

Takšni senzori so na primer beljakovine, imenovane integrini, ki segajo čez membrano, in ionski kanalčki, ki so občutljivi za obremenitve na zgornji (apikalni) strani celic, torej tisti, ki je usmerjena v prostor. Znano je, da mehanski dražljaji iz zunanosti preko prej omenjenih senzorjev sprožijo



Slika 1: Celice se odzivajo na mehanske dražljaje iz okolja, ki jih povzročajo različni procesi, kot so osmoza, trenje okoljske tekočine, napetost, stiskanje, pa tudi topografija, rigidnost in kemične lastnosti podlage, na kateri celice rastejo, oziroma zunajceličnega matriksa. Mehanske dražljaje zaznavajo celice s številnimi zanje občutljivimi beljakovinami, kar povzroči, da se spremeni povezava med njimi in elementi notranjega celičnega ogrodja. Ta sprememba nato na drugi strani vpliva na povezavo med elementi notranjega celičnega ogrodja (v glavnem aktinskimi vlakni) in povezavo med temi vlakni in proteini jedrne ovojnice. Ta sprememba vpliva na izražanje genov in posledično na izražanje (biosintezo) beljakovin, ki so tesno povezane z delovanjem celice in vplivajo na procese, kot so proliferacija, diferenciacija, celična smrt (apoptoza) in podobno.

Mehanska trdnost živalskih celic je v prvi vrsti odvisna od notranjega celičnega ogrodja, ki ni le preplet že omenjenih treh oblik vlaknatih beljakovin, temveč vključuje tudi beljakovine, ki so povezane z njimi. V tako zapletenem sistemu lahko motnja v kateri koli vlaknati ali z vlakni povezani beljakovini pripelje do sprememb v fiziološkem delovanju celic in posledično do bolezni. Zato bi lahko ugotovitve o mehanskih lastnostih celic uporabili kot kazalec njihovega biološkega stanja, kar bi omogočilo boljše razumevanje nekaterih bolezni.

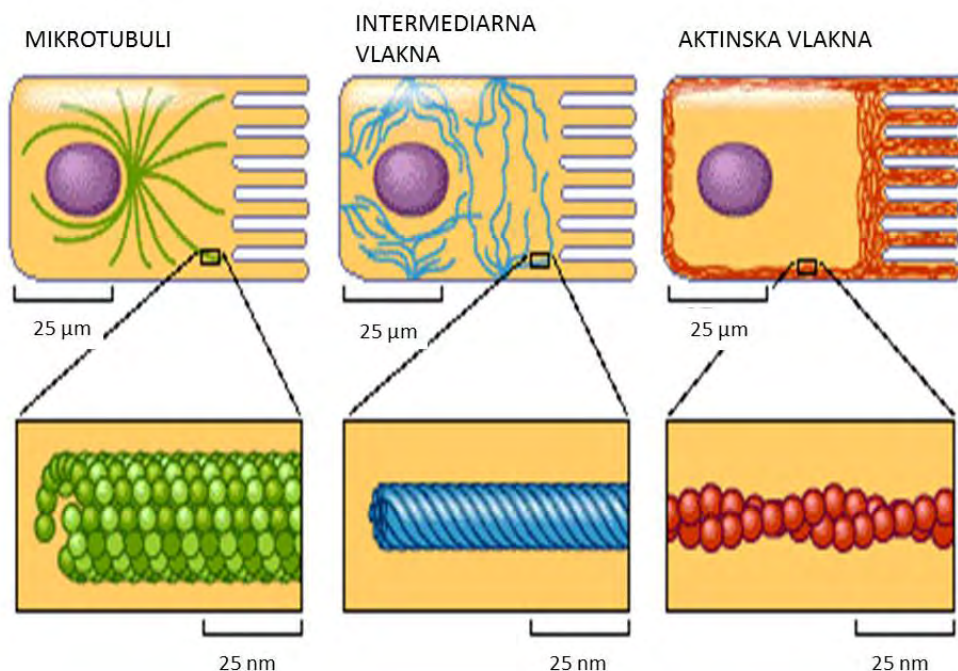
biokemične spremembe na nekaterih beljakovinah v notranjosti celice. To povzroči neke vrste verižno reakcijo: aktivacija predhodne beljakovine sproži signal za aktivacijo naslednje beljakovine v citoplazmi. Ti signali se nato končno prenesejo v jedro, kjer dosežejo specifične dele DNA, kar vpliva na izražanje genov. Nedavno so ugotovili, da se ob biokemičnih signalih neposredno prenašajo tudi mehanski signali, kar imenujemo mehanotransdukcija. Neposredna mehanska pot vključuje vlaknate beljakovine (aktinska vlakna, mikrotubule in intermediarna vlakna) v citoplazmi, ki sestavljajo notranje celično ogrodje (citoskelet). Beljakovine notranjega celičnega ogrodja se nato povezujejo z beljakovinami jedrne ovojnice – nesprini, ki prenesejo mehanske signale preko jedrne ovojnice do laminov, jedrnih proteinov, ki pripadajo skupini intermediarnih vlaken. Lamini so povezani s kromatinskimi kompleksi (kompleksi jedrnih proteinov in DNA) in na ta način vplivajo

na izražanje genov ter posredno na izražanje (biosintezo) beljakovin, kar se posledično izrazi v številnih bioloških procesih, vključno z adhezijo (pritrjevanjem), selitvijo oziroma gibanjem, proliferacijo (pomnoževanjem) in diferenciacijo celic.

Notranje celično ogrodje

Reorganizacija notranjega celičnega ogrodja je ena od prvih posledic mehanske obremenitve celic, ki ji sledi proizvajanje sile. Notranje celično ogrodje sestavljajo trije sis-

Slika 2: Shematski prikaz sestave posameznih elementov notranjega celičnega ogrodja (mikrotubulov, intermediarnih vlaken in aktinskih vlaken) in njihove namestitve v celici. Slika je povzeta po Pearson Education, Inc. (http://www.phschool.com/science/biology_place/biocoach/cells/cytoreview.html.)



temi vlaknatih beljakovin: aktinska vlakna, mikrotubuli in intermediarna vlakna, ki so sestavljena iz podenot (slika 2).

Površina notranjega celičnega ogrodja je glede na velikost celic razmeroma velika. Za primerjavo povejmo, da je površina celične membrane velika približno sedemsto kvadratnih mikrometrov, površina vseh notranjih membran je približno desetkrat večja in samo površina aktinskih vlaken še okoli petkrat večja kot površina notranjih membran, primerljivi pa sta tudi površini ostalih dveh vlaknatih sistemov: intermediarnih vlaken in mikrotubulov.

Pri naših poskusih smo ugotovili, da se sprememba v organizaciji katerega koli sestavnega elementa notranjega celičnega ogrodja kaže v spremenjeni organizaciji drugih dveh vlaknatih sistemov notranjega celičnega ogrodja. Razlike se poznajo tudi, če se spremeni sestava membrane, ki obdaja celico (plazemska membrana) in je z notranjim celičnim ogrodjem neposredno ali posredno povezana. Vse to pa vpliva na trdoto celic in na povezavo med

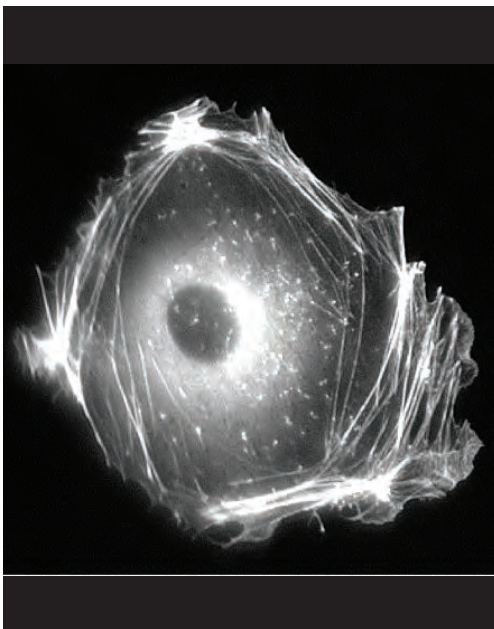
celično membrano in notranjim celičnim ogrodjem.

Aktinska vlakna

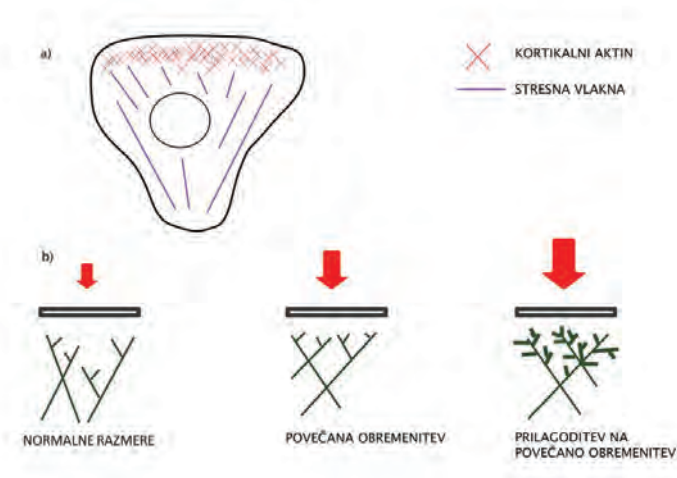
Aktinska vlakna (slika 3), najbolj znan element notranjega celičnega ogrodja, so zelo dinamična in se po potrebi zelo hitro reorganizirajo. To omogoča celicam hitro spreminjanje oblike, kar pa sovпада s celičnim gibanjem, homeostazo oziroma vzdrževanjem ravnovesnega stanja tkiv in diferenciacijo celic. Debela so od pet do sedem nanometrov, so polarna in sestavljena iz številnih podenot G-aktina, ki se med seboj povezujejo ter zavzamejo obliko vijačnice.

Aktinsko notranje celično ogrodje ima zelo raznovrstne naloge in sodeluje na primer pri pritrtanju celic na podlago, premikanju celic, prenosu signalov (v povezavi z različnimi receptorji, na primer povezavi celičnih membranskih receptorjev z integrini), celičnem ciklu (pri procesu delitve celic, v katerem se citoplazma deleče se celice porazdeli v hčerinski celici - citokineza), procesu absorpcije hranil (mikrovili v črevesnih celicah), krčenju (krčenje v mišičnih celicah) in znotrajceličnem prenosu veziklov in organelov v funkcijske predele celice (motorne beljakovine – miozini).

Aktinska vlakna so delno fleksibilni polimeri, ki se lahko organizirajo v različne arhitekturne oblike, kot so razvejene ali medsebojno povezane mreže, vzporedni snopi in antiparalelni kontraktilni snopi, ki delujejo kot mehanski elementi. Celično



Slika 3: Mikroskopska slika epitelijske celice iz ledvic vrečarja Potorous tridactylis, aktinska vlakna v njih smo označili imunofluorescentno. Postopek imunofluorescentnega označevanja temelji na uporabi s fluorescenčnim barvilom označenih protiteles, ki se specifično vežejo na preučevano beljakovino.

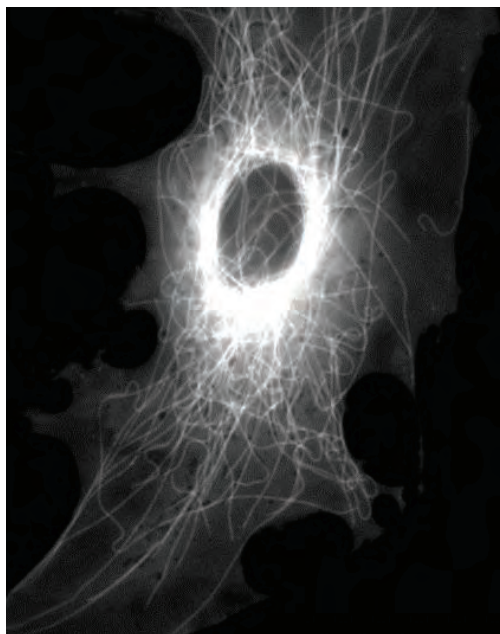


Slika 4: V kortikalnem delu celic, torej delu, ki se nabaja od petdeset do dvesto nanometrov pod celično membrano, so aktinska vlakna najbolj zamrežena (a). Stopnja zamrežitve se poveča, če se poveča obremenitev na celico (b).

trdoto lahko v različni meri uravnavajo tudi beljakovine, ki se vežejo na aktin, kar opozarja na pomen prostorske organizacije vlaken. Mreža aktinskih vlaken se pri upiranju mehanskemu stresu namreč ne zanaša le na lastnosti posameznega vlakna, temveč na bolj kompleksno organizirano zgradbo (zamrežitev).

Za celično trdoto sta pomembni predvsem dve obliki aktina: stresna vlakna in kortikalni aktin. Stresna vlakna so vzporedna s smerjo gibanja in so sestavljena iz aktinskih vlaken, beljakovin, ki so nanje vezane, in miozina II, ki omogoča proizvodnjo sile za premikanje celic. Kortikalni aktin je od petdeset do dvesto nanometrov debela mreža kratkih in dolgih aktinskih vlaken (slika 4), ki je zasidrana na notranji strani membrane. Ima pomembno vlogo pri nadzoru sprememb oblike celic, kar omogoča z loka-

lnimi spremembami kortikalne napetosti. Ta ni odvisna izključno od krčenja, ki temelji na aktinsko-miozinskih povezavah, temveč tudi od gostote vlaken, njihove zgradbe in sestave (slika 4b). Kortikalni aktin je na primer sestavljen iz dolgih in kratkih vlaken (slika 4b); kratka vlakna lahko pri nekaterih celičnih tipih predstavljajo tudi osemdeset odstotkov vseh aktinskih vlaken. Pomen zamrežitve za mehanske lastnosti v tem



Slika 5: Mikroskopska slika epitelne celice iz ledvic vrečarja Potorous tridactylis. Mikrotubule v njih smo označili imunofluorescentno.

predelu celic smo preučevali tako, da smo zavrli nastajanje kratkih vlaken. Posledica zmanjšane količine kratkih vlaken je bila, da so celice postale mehkejše.

Mikrotubuli

Mikrotubuli so petindvajset nanometrov debeli votli »cilindri«, ki so sestavljeni iz trinajstih protofilamentov. Vsak protofilament je sestavljen iz dimerov α - in β -tubulina (slika 5). Vloga mikrotubulov je najbolj opazna pri mitozii in mejozi (kjer vodijo pravilno porazdelitev kromosomov), pri znotrajceličnem prenosu veziklov/organelov (motorne beljakovine: dineini in kinezini) in pri lokomociji (celično gibanje z migetalkami in bički).

Polimerizacija in depolimerizacija tubulinov ustvarja sile, ki omogočajo spreminjanje oblike celic in organizacijo celičnih komponent med selitvijo celic. So tudi najtrši polimeri notranjega celičnega ogrodja in jih ni na obrobju celic (slika 2). Njihova vloga pri mehanskih lastnostih celice še ni obsežneje raziskana. V primerih, ko so porušili zgradbo mikrotubulov s farmakološko spojino nokodazol, so ugotovili, da so nastale spremembe v elastičnih lastnostih celic, ki so bile celično specifične, v nekaterih primerih pa sprememb sploh niso zaznali.

Intermediarna vlakna

Intermediarna vlakna so zelo široka skupina vlaknatih beljakovin notranjega celičnega ogrodja, ki so svoje ime dobila po debelini približno deset nanometrov, kar je vrednost med aktinskimi vlakni in mikrotubuli. So kompleksni polimeri, ki lahko vsebujejo do dvajset tisoč enovito (homo-) ali različno sestavljenih (hetero)dimernih podenot in tvorijo zapletene mreže vlaken, ki se raztezajo od jedra do celične membrane (slika 2). Obstajajo citoplazemska in jedrna intermediarna vlakna. So multigenška družina (do sedaj je bilo odkritih sedemdeset genov, ki kodirajo več kot triinsemdeset različnih beljakovin). Tudi te beljakovine

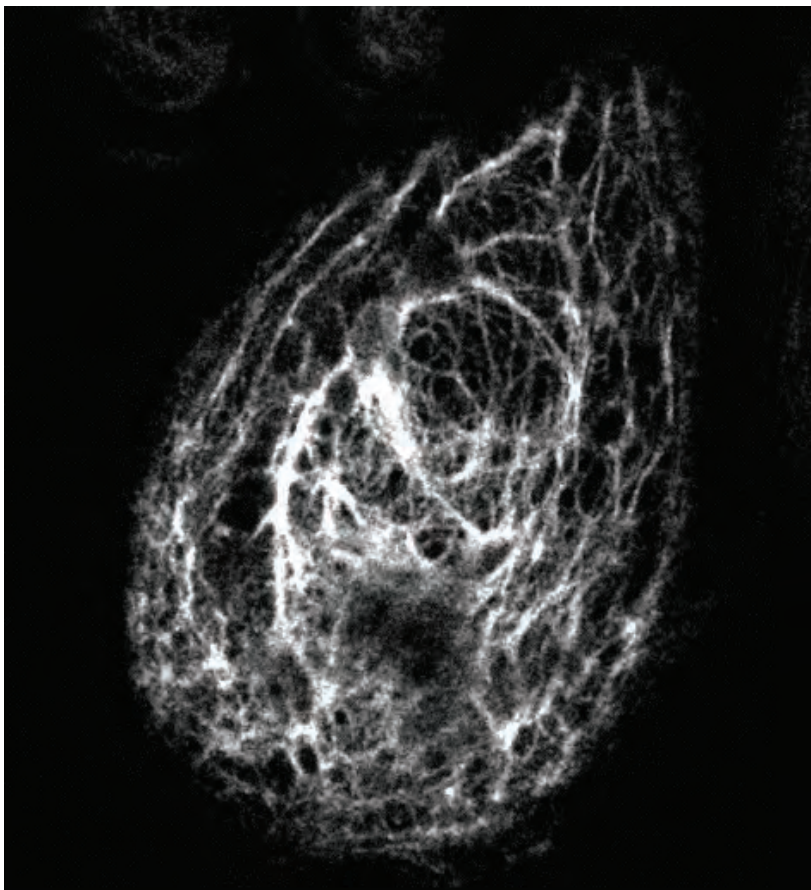
imajo veliko različnih vlog pri normalnem delovanju celic: dajejo mehansko oporo celicam, vplivajo na obliko in velikost celic, sodelujejo v celičnem ciklu in pri celičnem signaliziranju ter so pomembni označevalci diferenciacije tkiv in bioznačevalci za diagnostiko tumorjev. Beljakovine, ki sestavljajo intermediarna vlakna, so specifične tako glede na tkivo, v katerem se izražajo, kot tudi na razvojno stopnjo in jih delimo v šest osnovnih tipov (tabela 1).

Tabela 1: Pregled beljakovin intermediarnih vlaken in njihova zastopnost v različnih celičnih tipih.

TIP	Beljakovine intermediarnih vlaken	Celice
I	Keratini (kisli)	Epitelijske
II	Keratini (bazični)	Epitelijske
III	Dezmin Vimentin Periferin GFAP	Mišične Mezenhimatske Periferno živčevje Astrociti
IV	Neurofilamenti L, M, H α -interneksin Nestin Sinkoilin Sinemin α , β	CŽS CŽS v razvoju Mišične celice
V	Lamini (A, B, C)	Jedro
VI	Fakinin (CP49) Filensin (CP115)	Očesna leča

Keratini so beljakovine intermediarnih vlaken (slika 6), ki se uvrščajo v tipa I in II inter-

Slika 6: Keratinska vlakna v človeškem keratinocitu, v katerega smo vnesli genski zapis za izražanje keratinskih vlaken. Keratinska vlakna so na tej mikroskopski sliki označena s fluorescentnim barvilom.



mediarna vlakna in se izražajo v epitelijskih tkivih, predvsem v površinskem sloju kože v celicah, imenovanih keratinociti. Posledica mutacije v dveh vrstah keratinov (keratinu 5 ali 14) je pretežno avtosomno dominantna genetska bolezen epidermolitična buloza (*epidermolysis bullosa simplex*). Bolezen se izraža kot nezmožnost kožnih keratinocitov, da se zoperstavijo fizičnemu stresu, kar povzroči resne kožne poškodbe, ki lahko v skrajnem primeru vodijo v smrt. Mutirani keratinociti izražajo normalno in mutirano obliko keratina v različnem razmerju, vendar učinki mutirane oblike v vseh primerih te dominantne genetske bolezni prevladajo. Od tipa mutacije pa je odvisna resnost bolezni (bolezenski fenotip). Najbolj tipična fenotipska sprememba na celični ravni je

prizadeta mreža keratinov predvsem na obrobju celic, kar se kaže tudi na mehanskih lastnostih teh celic.

Jedro

Večina celic sesalcev ima eno jedro, ki je sferične ali ovalne oblike in je v premeru veliko od pet- do dvajset mikrometrov. V različnih celicah je jedro pet do desetkrat bolj trdo od okoliškega notranjega celičnega ogrodja in je hkrati tudi največji celični organel. Zavzema obsežen del celice, njegove mehanske lastnosti pa znatno vplivajo na mehanske lastnosti celotne celice. Mehanske lastnosti jedra so povezane z njegovo zgradbo in arhitekturo. Označujejo jo predvsem jedrna membrana, lamina in notranjost, ki jo sestavljata kromatin in jedrno ogrodje. Je-

drna lamina je gosta beljakovinska mreža, ki leži neposredno pod jedrno membrano. Njen glavni sestavni del so beljakovine lamini, ki spadajo med intermediarna vlakna tipa V in so specifični za jedro. Imajo pomembno vlogo pri mehaniki jedra, ugotovili pa so tudi, da lahko mutacije v nekaterih oblikah lamina povzročijo vsaj deset bolezni pri ljudeh, vključno z mišičnimi distrofijami (oslabitvijo in razgradnjo mišičnega tkiva), kardiomiopatijami (odebelitvijo in otrditvijo srčne mišice), lipodistrofijami (degenerativnimi boleznimi maščevja) in tako dalje. Odgovorni so tudi za normalno aktivacijo mehanosenzitivnih genov (genov, ki imajo zapis za proteine, občutljive za mehanske spodbude) in za mehanotransdukcijsko sporočanje (geni, ki imajo zapis za beljakovine, potrebne za odziv celice na mehanske spodbude). Kot že omenjeno, so tudi v jedrni notranjosti odkrili številne strukturne beljakovine, vključno z aktinom, miozinom in lamini. Jedrni aktin naj bi sodeloval v prepisovanju DNA, miozin pa je pomemben za premikanje DNA v jedru. Notranjost jedra deluje kot stisljivi, vodnati, gobi podobni viskoelastični material, ki ob stisku poveča trdoto. Večina notranjosti je zapolnjena s kromatinom, modifikacije kromatinske zgradbe pa lahko neposredno vplivajo na fizikalne lastnosti jedra. Kot že omenjeno, se zunanje sile prenesejo preko notranjega celičnega ogrodja do jedra, kar znatno deformira jedro.

Biomehanika

Celice so nenehno izpostavljene različnim silam iz okolja, kar povzroči spremembe v notranjem celičnem ogrodju. To predstavlja oporo celic, pomembno pa je tudi za njeno gibanje, zato bi lahko rekli, da so notranje celično ogrodje okostje in mišice celice. Tako kot mehansko začutimo zlom kosti ali spremenjeno mišično sestavo, kar posledično vpliva na ostale organe v telesu, lahko mehanske spremembe - kot posledico bolezenskih sprememb, mutacij in spre-

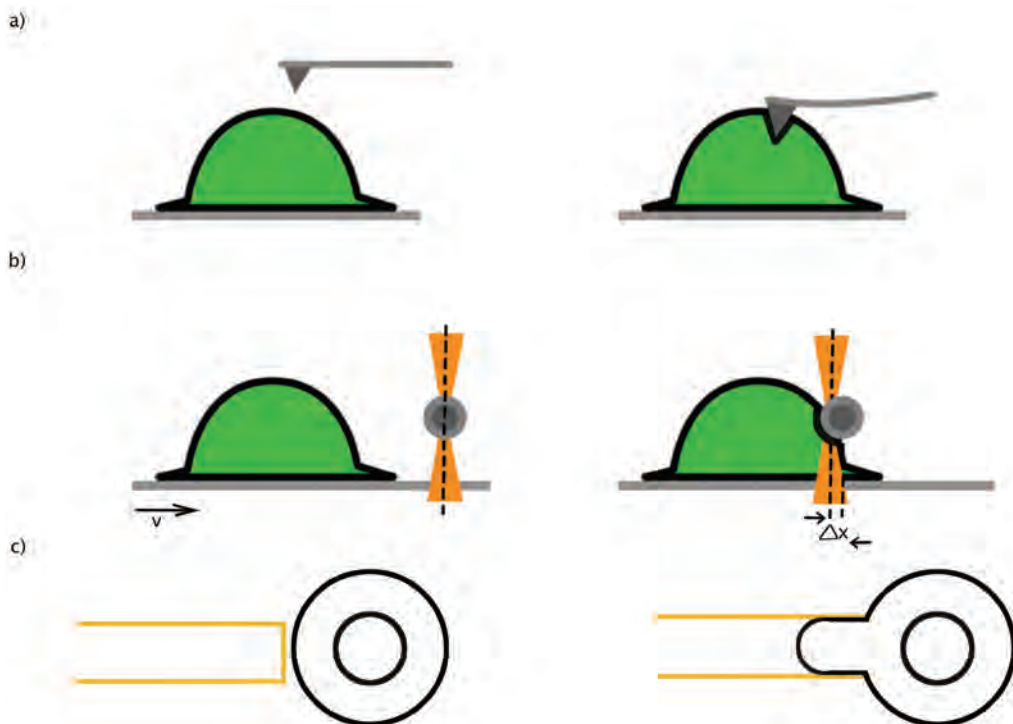
memb zaradi kemijskih ali fizikalnih dejavnikov - zaznamo tudi v celicah. S tovrstnimi spremembami in meritvami se ukvarja znanstveno področje biomehanika.

Merjenje mehanskih lastnosti celic

V biomehaniki so zaradi velikostnih omejitev sprva preučevali zgradbo in funkcijo bioloških sistemov na ravni celotnih organizmov ali posameznih organov. Razvoj eksperimentalnih metod na področju celičnih kultur in površinskih znanosti pa je omogočil raziskave tudi na ravni posameznih celic. Mehanske lastnosti nam opisujejo, kako se kak material deformira zaradi obremenitve in kako se ta deformacija spreminja v času. Če to prenesemo v okvir celične biomehanike, lahko z njo preučujemo mehanske lastnosti celic in odziv celic na mehanske dražljaje iz okolice. Številne tehnike, ki jih sedaj uporabljamo za merjenje mehanskih lastnosti posameznih celic, so razvili za merjenje mehanskih lastnosti materialov. V grobem jih razdelimo v »aktivne« in »pasivne«. »Aktivne« metode (slika 7) so tiste, pri katerih uporabimo zunanjo silo oziroma obremenimo celico zato, da jo deformiramo. Pri »pasivnih« metodah pa beležimo mehanske sile, ki jih povzročajo celice same, sicer pa ne uporabljamo ali ustvarjamo sil od zunaj.

Primeri »aktivnih« metod

Za merjenje mehanskih lastnosti uporabljajo v raziskavah najpogosteje mikroskopijo na atomsko silo (*atomic force microscopy, AFM*) (slika 7a). Pri tej tehniki uporabljajo tipalo s konico, ki je lahko različnih geometrijskih oblik (piramida z ostro konico, sfera ...) in je pritrjena na gibljivo ročico. Mikroskop na atomsko silo meri silo med konico tipala in vzorcem - če na konico in s tem na ročico deluje sila, se slednja upogne, kar se da zaznati in izmeriti. Sile, s katerimi delujemo na vzorec, so v tem primeru v območju nanonewtonov (nN), kar pa že zadošča za zaznavanje mehanskih lastnosti globlje ležečega



Slika 7: Shematski prikaz tehnik, ki jih uporabljamo za merjenje mehanskih lastnosti celic: (a) mikroskopija na atomsko silo, (b) optična pinceta, (c) vsesavanje v mikropipeto.

notranjega celičnega ogrodja in tudi jedra. V primeru, da nas zanimajo mehanske lastnosti, ki so povezane s celično membrano in kortikalnim notranjim celičnim ogrodjem, pa moramo na celico delovati z nižjimi silami. Tehnika, ki je uporabna pri tovrstnih zahtevah, je optična pinceta (slika 7b), ki jo uporabljamo tudi pri nas. V tem primeru ujamemo mikrosfero v fokusirani laserski snop, jo potisnemo v celico in jo nato ponovno povlečemo ven. Iz meritev sile, ki pri tem delujejo na mikrosfero, lahko določimo mehanske lastnosti celic. Sile v tem primeru pa so v območju pikonewtonov (pN), kar je desetkrat nižja sila kot pri mikroskopu na atomsko silo. Kot zanimivost bi dodala, da je Arthur Ashkin leta 2018 za razvoj optične pincete dobil Nobelovo nagrado za fiziko.

Pri obeh opisanih primerih merimo mehanske lastnosti celic lokalno, kar je tudi slabost obeh in njima podobnih metod. Celica namreč ni homogena, njena trdota pa je lahko na različnih delih precej različna. Takšno raznolikost je pri izvedbi poskusa in pri interpretaciji rezultatov treba upoštevati. Pomanjkljivostim, nastalim zaradi lokalnih meritev, se lahko izognemo tako, da deformiramo celotno celico. To dosežemo na primer z vsesavanjem v mikropipeto (slika 7c). V tem primeru naslonimo rob pipete ob celico in jo nežno vsesamo. Podatke o lastnostih celice dobimo iz geometrije nastale deformacije in tlaka, ki je za to potreben, kar omogoči izračun dovedene sile in določitev mehanskih lastnosti celic. Metodo lahko uporabimo le na nepritrjenih celicah, kar pa predstavlja novo pomanjkljivost, saj je

večina celic v fizioloških razmerah pritrjena. Pri večini metod merimo mehanske lastnosti na posameznih celicah. Metode so zelo počasne, zato za zdaj še niso primerne za večje vzorce ali celo za klinično diagnostiko. Razvijajo pa že nove metode, s katerimi bodo v kratkem lahko zbrali podatke o večjih populacijah celic. O uporabi mehanskih lastnosti v diagnostiki bomo napisali še kaj več v nadaljevanju.

Mehanske lastnosti rakavih celic

Tumorje pogosto odkrijejo z otipom (palpacijo) kot neprožno (rigidno, trdo) maso, ki se nahaja znotraj prožnega tkiva. Neproznost (rigidnost, trdost) tumorja je med drugim posledica zvišanja tlaka v medceličnini in stresa zaradi spremenjenega ožiljenja in njenega razširjenja. Tumor je zgradba raznolikih celic, ki med drugim sproščajo in spreminjajo zunajcelični matriks, kar povratno pomembno vpliva na mehanske lastnosti celic. Matriks sestavljajo velike količine vlaknatega kolagena, ki se povezuje vzdolžno in tudi prečno, kar še dodatno prispeva k povečanju trdote. Tumorji se torej razlikujejo od okolja v svojih mehanskih lastnostih, zaradi česar lahko intuitivno pričakujemo, da bodo tudi celice v njih imele drugačne mehanske lastnosti, kot jih imajo njihove zdrave različice. To so v zadnjem desetletju intenzivno raziskovali in ugotovili, da imajo maligne celice resnično spremenjene mehanske lastnosti, v večini primerov so namreč mehkejše od zdravih. Tumorji so torej trši od okolja, tumorske celice pa mehkejše, kar na prvi pogled deluje protislovno. Zavedati se moramo, da so tumorji kompleksen skupek med seboj povezanih celic, žil, spremenjene medceličnine in tako dalje, kar prispeva k mehanskim lastnostim na makroskopski ravni, mi pa se pri meritvah mehanskih lastnosti omejimo na posamezne celice, torej mikroskopsko raven. Mehanske lastnosti celic so tesno povezane s številnimi biološkimi funkcijami: pritrjanjem, del-

itvijo, gibljivostjo, diferenciacijo in deformacijo. Za bolj invazivne oblike raka, ki metastazira, je značilno, da so celice zelo gibljive. V številnih raziskavah so ugotovili, da je povišana celična gibljivost povezana z nižjo celično trdoto, kar je ugodno za lažjo deformacijo med premikanjem in invazijo novih predelov v telesu, s tem da se lahko prerinejo skozi žilne stene. Nižja trdota je povezana tudi s spremenjenim notranjim celičnim ogrodjem v rakavih celicah.

Mehanske lastnosti in diagnostika

Mehanske lastnosti celic bi tako lahko bile diagnostični označevalci v kliniki, vendar smo glede tega trenutno omejeni, saj večina metod meri lastnosti le na posameznih celicah, kar je časovno zamudno in neprimerno za večje vzorce.

Trenutno razvijajo nove načine uporabe mikroskopov na atomsko silo, ki bo omogočala meritve na celotnem z biopsijo pridobljenem vzorcu in ne le na posameznih celicah. S tem bi lahko v razmeroma kratkem času dobili predhodne podatke, ali gre za maligno tvorbo ali ne.

Druge metode za uporabo mehanskih lastnosti celic v diagnostiki temeljijo na mikrofluidiki. To je interdisciplinarna veda, ki se ukvarja z lastnostmi tekočin v kanalčkih s premerom do nekaj sto mikrometrov. Zajema številne metode, s katerimi lahko tekočine uporabimo za različne namene, kar omogoča minituarizacijo laboratorijskih procesov. V tem primeru bi lahko v kratkem času pomerili velike populacije živih celic, ne da bi jih pred tem bilo treba posebej obdelati ali označiti.

Zaključek

V različnih fazah življenja celice se njene mehanske lastnosti zelo spreminjajo, kar je povezano s fiziološkim stanjem in različnimi biološkimi funkcijami. Tudi patološke spremembe v celicah se pogosto kažejo v spremembi mehanskih lastnosti, zato postajajo te vedno močnejša orodja

za določanje značilnosti celic, spremljanje njenih procesov, kot je na primer diferenciacija, ali diagnozo bolezni. Glede na spodbudne rezultate temeljnih raziskav tovrstne analize obetajo možnost enostavnega in učinkovitega pristopa za uporabo v medicini, čemur uspešno sledimo tudi pri nas.

Literatura:

- Addae-Mensab, K. A., Wikswo, J. P., 2008:** *Measurement techniques for cellular biomechanics in vitro. Experimental Biology and Medicine (Maywood), 233 (7): 792-809.*
- Balikov, D. A., Brady, S. K., Ko, U. H., Shin, J. H., de Pereda, J. M., Sonnenberg, A., in sod., 2017:** *The nesprin-cytoskeleton interface probed directly on single nuclei is a mechanically rich system. Nucleus (Calcutta), 8 (5): 534-547.*
- Celik, E., Abdulreda, M. H., Maignel, D., Li, J., Moy, V. T., 2013:** *Rearrangement of microtubule network under biochemical and mechanical stimulations. Methods, 60 (2): 195-201.*
- Chalut, K. J., Paluch, E. K., 2016:** *The Actin Cortex: A Bridge between Cell Shape and Function. Developmental Cell, 38 (6): 571-573.*
- Fletcher, D. A., Mullins, R. D., 2010:** *Cell mechanics and the cytoskeleton. Nature, 463 (7280): 485-492.*
- Gavara, N., 2017:** *A beginners guide to atomic force microscopy probing for cell mechanics. Microscopy Research and Technique, 80 (1): 75-84.*
- Goldmann, W. H., 2018:** *Intermediate filaments and cellular mechanics. Cell Biology International, 42 (2): 132-8.*
- Grady, M. E., Composto, R. J., Eckmann, D. M., 2016:** *Cell elasticity with altered cytoskeletal architectures across multiple cell types. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 61: 197-207.*
- Guck, J., Chilver, E. R., 2013:** *Mechanics meets medicine. Science Translational Medicine, 5 (212): 212fs41.*
- Jokbadar, S. Z., Derganc, J., 2015:** *Structural Rearrangements in CHO Cells After Disruption of Individual Cytoskeletal Elements and Plasma Membrane. Cell Biochemistry and Biophysics, 71 (3): 1605-1613.*
- Lammerding, J., 2011:** *Mechanics of the nucleus. Comprehensive Physiology, 1 (2): 783-807.*
- Lane, E. B., 2009:** *Severe keratin 5 and 14 mutations induce down-regulation of junction proteins in keratinocytes. Experimental Cell Research, 315 (17): 2995-3003.*
- Lee, L. M., Liu, A. P., 2014:** *The Application of Micropipette Aspiration in Molecular Mechanics of Single Cells. Journal of Nanotechnology in Engineering and Medicine, 5 (4): 0408011-408016.*
- Liovic, M., Mogensen, M. M., Prescott, A. R., Lane, E. B., 2003:** *Observation of keratin particles showing fast bidirectional movement colocalized with microtubules. Journal of Cell Science, 116 (Pt 8): 1417-1427.*
- Liovic, M., D'Alessandro, M., Tomic-Canic, M., Bolsbakov, V. N., Coats, S. E., Luo, W., Lieu, Z. Z., Manser, E., Bershadsky, A. D., Sheetz, M. P., 2016:** *Formin DAAM1 Organizes Actin Filaments in the Cytoplasmic Nodal Actin Network. PLoS One, 11 (10): e0163915.*
- Mietke, A., Otto, O., Girardo, S., Rosendahl, P., Taubenberger, A., Golfier, S., in sod., 2015:** *Extracting Cell Stiffness from Real-Time Deformability Cytometry: Theory and Experiment. Biophysical Journal, 109 (10): 2023-2036.*
- Missirlis, Y. F., 2016:** *Mechanoepigenetics. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 4: 113.*
- Moendarbary, E., Harris, A. R., 2014:** *Cell mechanics: principles, practices, and prospects. Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine, 6 (5): 371-388.*
- Morone, N., Fujiwara, T., Murase, K., Kasai, R. S., Ike, H., Yuasa, S., in sod., 2006:** *Three-dimensional reconstruction of the membrane skeleton at the plasma membrane interface by electron tomography. Journal of Cell Biology, 174 (6): 851-862.*
- Osmanagic-Myers, S., Dechat, T., Foisner, R., 2015:** *Lamins at the crossroads of mechanosignaling. Genes and Development, 29 (3): 225-237.*
- Paluch, E. K., Nelson, C. M., Biais, N., Fabry, B., Moeller, J., Pruitt, B. L., in sod., 2015:** *Mechanotransduction: use the force(s). BMC Biology, 13: 47.*
- Plodinec, M., Loparic, M., Monnier, C. A., Obermann, E. C., Zanetti-Dallenbach, R., Oertle, P., in sod., 2012:** *The nanomechanical signature of breast cancer. Nature Nanotechnology, 7 (11): 757-765.*
- Quan, F. S., Kim, K. S., 2016:** *Medical applications of the intrinsic mechanical properties of single cells. Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai), 48 (10): 865-871.*
- Salbreux, G., Charras, G., Paluch, E., 2012:** *Actin cortex mechanics and cellular morphogenesis. Trends in Cell Biology, 22 (10): 536-545.*
- Swift, J., Discher, D. E., 2014:** *The nuclear lamina is mechano-responsive to ECM elasticity in mature tissue. Journal of Cell Science, 127 (Pt 14): 3005-3015.*
- Viita, T., Vartiainen, M. K., 2017:** *From Cytoskeleton to Gene Expression: Actin in the Nucleus. Handbook of Experimental Pharmacology, 235: 311-329.*

Urhu Vidmarju se zahvaljujem za oblikovanje slik 1, 4 in 7.