

ШКЛЯРОВА А.Н.^{1,2}, СТАРОДУБЦЕВА М.Н.^{1,3}, КОВАЛЕНКО Д.Л.²
**ОЦЕНКА МОДУЛЯ УПРУГОСТИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИИ ВТ-20 С ПОМОЩЬЮ РЕЖИМА PEAKFORCE
QNM АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ**

¹*Институт радиобиологии НАН Беларуси, Беларусь*

²*Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Беларусь*

³*Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь*

Научный руководитель – к.ф.-м.н., Коваленко Д.Л.

SHKLIARAVA N.M.^{1,2}, STARODUBTSEVA M.N.,^{1,3}, KOVALENKO D.L.²
**ASSESSMENT OF THE ELASTIC MODULUS OF BT-20 BREAST
CELLS USING THE PEAKFORCE QNM MODE OF ATOMIC FORCE
MICROSCOPY**

¹*Institute of Radiobiology of the NAS of Belarus, Belarus*

²*Francisk Scorina Gomel State University, Belarus*

³*Gomel State Medical University, Belarus*

Supervisor – PhD in Physics and Mathematics, Associate Professor D.L.
Kovalenko.

Аннотация: С помощью атомно-силовой микроскопии оценен параметры механических свойств модуль упругости клеток рака молочной железы линии ВТ-20: среднее значение модуля над ядерной областью - 63-207 кПа.

Ключевые слова: АСМ, модуль упругости, деформация, ВТ-20, PFQNM

Abstract: The elastic modulus of breast cancer cells of the BT-20 line was estimated using atomic force microscopy: the average modulus value over the nuclear region is 63-207kPa.

Keywords: AFM, modulus of elasticity, deformation, BT-20, PFQNM

Цель исследования: оценить механические параметры (модуль упругости и деформацию) поверхности клеток рака молочной железы линии BT-20 (тройного негативного рака) методом атомно-силовой микроскопии в режиме PeakForce QNM в жидкости.

Материалы и методы исследования. Клетки рака молочной железы линии BT20 культивировали в среде DMEM/F-12 с содержанием L-глутамин (SIGMA, США) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS, Life Technologies, США), 10 mM HEPES (Life Technologies, США) и антибиотиков (100 ед/мл пенициллина, 0,25 мкг/мл сульфата стрептомицина). Клетки инкубировались при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂. Сканирование поверхности клеток проводили с помощью атомно-силового микроскопа Bruker BioScope зондом серии SCANASYST-FLUID с радиусом закругления острия АСМ-зонда - 20 нм и константой жёсткости - 0,7 Н/м при 37°C.

Сканирование проводилось в режиме PeakForce QNM, который использует синусоидальную модуляцию основания кантилевера относительно поверхности образца. Более высокая скорость нарастания QNM PeakForce позволяет получать более подробные карты свойств материалов за меньшее время. PeakForce QNM контролирует нормальную силу взаимодействия наконечника с образцом, определяя пиковую силу каждого нажатия и передавая информацию в обратную связь цикл, который выполняется непрерывно. Этот контроль силы основан на результатах предыдущих нажатий и на том факте, что синусоидальная форма волны приводит к тому, что скорость наконечника приближается к нулю по мере приближения наконечника к пику, что обеспечивает сверхнизкую силу взаимодействия пиковая сила может достигать десяти пН [1]. Калибровку зондов проводили перед сканированием образцов клеток контактным методом в соответствии с протоколом производителя микроскопа в

несколько этапов [2]. Размер сканирования - 100 мкм × 100 мкм, скорость сканирования - 0,5 Гц и частота сканирования - 1 кГц.

Результаты и их обсуждение. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет оценивать структурные и механические свойства биологических клеток. Режим PeakForce QNM [3] используют для построения карт распределения различных параметров механических свойств (адгезия, жёсткость и др.) поверхности с нанометровым разрешением. Механические свойства поверхности являются ключевыми свойствами раковой клетки в процессах взаимодействия клетки с другими клетками и межклеточным матриксом. На рисунке представлена карта распределения пиковой силы PeakForce, позволяющая рассмотреть детали структуры живых клеток ВТ-20 (Рисунок 1).

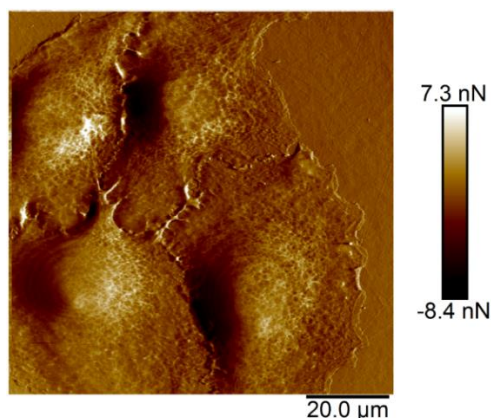


Рисунок 1.

Карта пиковой силы (Peak Force) образца клеток линии ВТ-20

В таблице представлены результаты оценки модуля упругости и величины деформации для поверхности 10 клеток из популяции клеток ВТ-20. Анализ параметров выполнен с помощью данных карт модуля упругости и деформации, на которых были выбраны отрезки длиной 1 мкм, которые позволяют сделать срез профиля и импортировать полученные данные в XZ Data. Данные были проверены на нормальность распределения критериями: Андерсон-Дарлинг (для МУ $p=0.92$, для деформации $p=0.05$), Шапиро-Уилка (для МУ $p=0.93$, для деформации $p=0.05$), Колмогорова-Смирнова

(для МУ $p=0.81$, для деформации $p=0,01$). Следовательно, результат статистической оценки параметров в таблице представлен в виде медианы (нижний кв/верхний кв). Полученные величины указывают, что клетки линии BT-20 являются относительно жёсткими в сравнении с жёсткостью раковых клеток других линий, имеющих в литературных источниках [4].

Таблица.

Параметры механических свойств (деформация и модуль упругости) поверхности 10 клеток линии BT-20

	1	2	3	4	5
Модуль упругости, кПа	146 (130;182,5)	140 (132;140)	138 (122;154)	206,5 (139,2;216,8)	70,90 (63,15;79,95)
Деформация, нм	125,5 (121;128,8)	116 (114,5;122,5)	124 (124;127)	132,5 (122,5;137,5)	118 (114;125,2)
	6	7	8	9	10
Модуль упругости, кПа	63,1 (59,9;178,6)	294 (269;301)	176 (223,8;416)	350,5 (223,8;416)	127 (117;140,2)
Деформация, нм	136 (134,5;141,5)	144,5 (138,8;147,2)	140 (126;143)	142 (134;144)	104,50 (80,05;113)

Выводы. При изучении механических свойств поверхности клеток рака молочной железы, тройного негативного рака, линии BT-20 с помощью режима картирования наномеханических свойств PeakForce QNM атомно-силовой микроскопии в физиологических условиях установлено, что раковые клетки в культуре характеризуются средним модулем упругости в широком диапазоне от 63 до 207 кПа, связанным с неоднородностью свойств различных клеток в популяции.

Литература/References

1. Pittenger B., Erina N., Su C., Quantitative Mechanical Properties Mapping at the Nanoscale with PeakForce QNM // Bruker Application Note.2012.–No 128

2. Starodubtseva M.N., Nadyrov E.A., Shkliarava N.M., [et al.] Heterogeneity of nanomechanical properties of the human umbilical vein endothelial cell surface. //Microvasc Res. 2021. –Vol.136. – P.104168. Datar R., Kim S., Jeon S.
3. Hesketh P. Cantilever Sensors: Nanomechanical Tools for Diagnostics // MRS Bulletin.2009.– Vol.34,No6.–P. 449-454.
4. Quan F.S., Kim K.S., Medical applications of the intrinsic mechanical properties of single cells // Acta Biochim Biophys Sin.2016.–Vol.48.–P.865-871