

## **Wpływ elastyczności podłoża hodowlanego na rekrutację taliny do kontaktów zogniskowanych**

Migracja komórek leży u podstaw wielu procesów fizjologicznych, takich jak rozwój zarodkowy, odpowiedź immunologiczna czy gojenie się ran, oraz patofizjologicznych, takich jak przerzuty nowotworowe. Z tego powodu zrozumienie mechanizmów molekularnych stojących za tymi procesami jest jednym z głównych celów w biologii komórki.

Obecnie większość badań komórkowych prowadzi się na sztywnych szklanych lub plastikowych podłożach. Tego rodzaju podłoża nie odzwierciedlają dobrze mechanicznych właściwości ludzkiego ciała; nie jesteśmy stworzeni ani ze szkła, ani z plastiku. Tylko kości mają podobną sztywność do powyższych materiałów.

Ponad piętnaście lat temu wykazano, że komórki wyczuwają elastyczność podłoża. Co więcej, właściwości mechaniczne otoczenia mają ogromny wpływ na adhezję komórek, morfologię, a nawet różnicowanie. W naszych badaniach wstępnych komórki wykazywały znaczną różnicę w dynamice ruchów ich krawędzi pomiędzy hodowlami na podłożu elastycznym i na szkle. Podejrzewamy, że zmiany wynikają z różnicy w aktywności taliny1 - białka zaangażowanego w tworzenie wiązania między komórką a podłożem, zwanych kontaktami zogniskowanymi. Jest ona również jednym z białek odpowiedzialnych za odczuwanie środowiska mechanicznego wokół komórki. Co więcej, wiele badań uznaje talinę za ważny składnik procesów nowotworzenia i tworzenia przerzutów.

**Celem niniejszego projektu jest charakterystyka dynamiki krawędzi komórek oraz jej związek z rekrutacją taliny1 do miejsc adhezji w funkcji właściwości mechanicznych środowiska komórkowego, w szczególności sztywności podłoża hodowlanego.**

**Uważamy, że mechanizmy molekularne odpowiedzialne za różnice w zachowaniu komórek na podłożach o różnej sztywności są powiązane z taliną1. Podejrzewamy, że mechanizm odpowiedzialny za wiązanie taliny1 do miejsc adhezji w komórkach jest zmieniony lub wiązanie trwa zbyt krótko, aby stworzyć stabilne połączenie między błoną komórkową a podłożem. Zbadamy rozkład przestrzenny i dynamikę rekrutacji taliny1 w komórkach hodowanych na elastycznych podłożach. Ponadto, jeśli zmiany na elastycznych podłożach są związane z przyłączaniem taliny1, może być również hamowana aktywacja  $\beta$ -integryny, innego białka związanego z adhezją komórek aktywowanego przez talinę1. W związku z tym, drugim celem tego projektu jest ocena kolokalizacji taliny1 i  $\beta$ -integryny i ich interakcji w komórkach hodowanych na elastycznych podłożach.**

W tym celu, komórki mysich embrionalnych fibroblastów, układ modelowy w badaniach migracji komórkowej, będą wysiane na elastycznych podłożach poliakrylamidowych o różnej elastyczności. Zmiany dynamiki ruchu krawędzi komórki, rozkładu taliny1 i dynamiki jej rekrutacji oraz interakcji taliny1 -  $\beta$ -integryny będą analizowane przy użyciu różnych metod znakowania białek oraz zaawansowanych metod mikroskopii optycznej, w tym mikroskopii konfokalnej, obrazowania fluorescencji żywych komórek, mikroskopii FRET i testu ligacji krótkozasięgowej (*ang. Proximity Ligation Assay*).

Aktualne badania migracji komórek na podłożach elastycznych wykorzystują białka kontaktów zogniskowanych do monitorowania innych właściwości komórek. Proponowany projekt ma na celu podkreślenie różnic biochemicznych w funkcjonowaniu tych białek, szczególnie taliny1. Pierwszym celem tego badania jest przeprowadzenie analizy dynamiki krawędzi komórki.

Ponieważ talina1 jest jednym z pierwszych białek rekrutowanych do miejsc adhezji podczas migracji komórek, staranna analiza pozwoli skoncentrować się na mechanizmie molekularnym początkowych etapów migracji i na tworzeniu połączeń między komórką a podłożem. Analiza różnic w rozmieszczeniu i czasowo-przestrzennej dynamice taliny1 w komórkach hodowanych na różnych podłożach pozwoli lepiej opisać jej rolę jako białka szlaku przekazywania sygnału mechanicznego, aktywatora  $\beta$ -integryny i białka kontaktu zogniskowanego. Ponadto analiza interakcji  $\beta$ -integryny z taliną1 w funkcji elastyczności podłoża da dodatkowy wgląd w inicjację adhezji komórkowej.

Co więcej, talina odgrywa ważną rolę w rozwoju wielu typów nowotworów. Głębszy wgląd w mechanizmy molekularne regulujące rozkład i aktywność taliny może przyczynić się do opracowania nowych metod leczenia przeciwnowotworowego w przyszłości.