

Undersökning av cellens mekaniska reaktionsväg

Cancer är ett existentiellt problem världen runt. Den kan uppstå i nästan vilken vävnad som helst och innebär att vissa celler börjar dela sig obehindrat. Dessutom kan tumörceller sprida sig till andra delar av kroppen och bilda så kallade metastaser. Ibland räcker det att lokalt ökad styvhet bidrar till cancercellernas metastasering och på det sättet förvärrar sjukdomen. Därför är det väldigt viktigt att undersöka i grunden vad som kan generera en sådan respons och granska processer som sker inuti cellen.

I detta projekt vill vi undersöka hur specifika proteiner, nämligen Yes-associated protein (YAP) och aktinfilament, påverkar varandra. YAP är involverad i cellens transkriptionsprocess, där cellen bestämmer vilka gener i DNAt som ska översättas till mRNA och därmed börja tillverka proteiner som kommer hjälpa cellen att anpassa sig till sin omgivning. När YAP är i sin aktiva form pendlar den in i cellkärnan där den kan initiera DNA-transkription. YAP är inaktiverat, då den är lokaliserad i cytoplasman. YAP är bland annat reglerad av så kallad Hippo cellsignalerings som kontrollerar organstorleken genom att bestämma ifall en cell ska dela sig eller begå apoptos (programmerad celledöd). Ifall dessa funktioner ej fungerar korrekt, kan det leda till sjukdomar som exempelvis cancer. Därför är regleringen av YAP väldigt intressant för forskningen. Det finns belägg för att Hippo cellsignalerings inte är det enda som reglerar YAP, utan att det också kan styras av de mekaniska signalerna utifrån. Det finns olika teorier om hur det kan ske och i detta projekt tittar vi närmare på en av dem.

Celler bildar fysiska länkar tvärs över cellmembranet som kopplar dem till omgivningen. Genom dessa länkar kan de mekaniska signalerna först kännas av och därefter färdas vidare. Via en kedjereaktion kan de nå cellkärnan och generera specifik respons. Dessa länkar kallas för fokaladhensioner och är uppbyggda av många olika proteiner. De transmembrana proteinerna som binder till den extracellulära matrisen (ECM) kallas för integriner. Det existerar många slags integriner som kan binda till respektive ECM-markörer. De långa filamentstrukturerna som till största del utgör cellens skelett och tjänar som signalöverförare kallas för aktin. Aktinnätverket är kopplat till fokaladhensionerna och spinner hela cellens cytosol.

I detta projekt söktes en koppling mellan organiseringen av aktinet i fokaladhensionerna och YAP-aktivering. Vi utvecklade därför två experiment. Vi tar reda på graden av aktinorganisering (hur pass slumpmässigt filamenten är ordnade) genom att färga in aktinet och sedan avbilda med ett polarisationskänsligt mikroskop som endast skannar de ytliga strukturer på cellen. Sedan, med hjälp av bildanalys, har bilddata kunnat sammanställas till lätthanterliga värden. För att undersöka YAP-aktivering, färgade vi på liknande sätt in YAP, cellkärnan och aktinet och skannade flera olika nivåer av cellen för att omfatta hela dennes volym. Med hjälp av bildanalys kunde mängden av YAP som tillhör kärnan och cytoplasman komponeras till ett ratio.

För att kunna jämföra kopplingen mellan YAP aktivering och aktinets struktur i diverse miljöer, placerades celler på olika koncentrationer av fibronectin, ett protein som finns i ECM. I ett ytterligare experiment, korslänkades fibronectinet på så sätt som gör att det blir svårare för cellen att hantera och bygga om det. Genom att ändra på cellens omgivning på detta sätt, varieras andelen integriner som kan binda sig. Således, påverkas hela mekaniska signalleringsprocessen. De tidigare beskrivna experimenten utfördes således på celler utsatta för växlande förhållanden.

Resultaten visar att aktinordningen blir mer organiserad vid ökad koncentration av fibronectin och blir mer slumpartad då matrisen är korslänkad. Detta kan bero på att vid låg tillgång till fibronectin, kan inte integriner binda sig lika bra till sin omgivning, som gör att det blir svårare för fokaladhensionerna att formas. I sin tur

påverkar det aktinstrukturen. Det blir alltjämt svårare när ombyggnaden av matrisen är begränsad. Å andra sidan visade det sig att YAP aktiveringen förhåller sig på ett mer komplicerat sätt till omväxlingarna och korrelerar inte aktintrenden fullt ut. En förklaring till det kan vara att vi ser mekanisk reglering blandat med Hippo cellsignaler. Dock behövs det fler experiment för att dra några slutsatser.