

Defining of Mechanical Properties of Ago-1522 Living Cell Using Atomic Force Microscope

Ali Sadeghi^{a*}, Adel Pour Esmaeil Fatideh^a, Matineh Mohseni^b, Fatemeh Shahrizadegan^b

^aDepartment of Mechanical Engineering, Damavand branch, Islamic Azad University, Damavand, Tehran, Iran, 1647643471

^bDepartment of Biomechanical Engineering, Central Tehran branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, 1643148571

Original Article

Use your device to scan
and read the article online



Citation: Sadeghi A, Pour Esmaeil Fatideh A, Mohseni M, Shahrizadegan F. Defining of Mechanical Properties of Ago-1522 Living Cell Using Atomic Force Microscope. *Mechanics of Advanced and Smart Materials*. 2022;2(1):1-12

 <https://10.52547/masm.2.1.1>

KEYWORDS

Atomic force microscope,
Elasticity modulus,
Adhesion force,
Living cell,
Mechanical properties.

ABSTRACT

In general, every normal cell of the human body, which consists of different parts such as the nucleus, cell membrane and protein nanofibers, has a certain mechanical hardness and strength. Any noticeable change in this strength indicates a disease. One way to diagnose various diseases such as cancer in normal cells of the human body is to measure the amount of changes that have occurred in their mechanical properties. In the present paper, mechanical properties including modulus of elasticity and adhesion force of Ago-1522 cell, which is considered as a natural skin cell, using JPK atomic force microscope (made in Germany), Nano Wizard 3 in both extension and retraction modes, and obtained at a temperature of 37 degrees Celsius. Based on the results, the average elastic modulus for the cell in the extension mode (as the valid mode in the reports) is equal to 574.4 Pa. The adhesion force is equivalent to 2.112×10^{-21} N in retraction mode. Based on images taken from the surface of the cell with an atomic force microscope, its maximum height is 0.4 micrometers.

Extended Abstract

1. Introduction

An atomic force microscope (AFM) is used to investigate organic samples, ranging from molecules to a single cell. The AFM indentation on cells is a convenient approach to investigating their mechanical specifications. AFM was invented by Gerber et al. [1] in 1986 and is a powerful device for detecting the mechanical specifications of the body cells. In the past, the deformability of cells has been studied with different methods [2, 3], as changes in cellular deformability are of significant importance in the progress of various illnesses [4]. Nowadays, the development of measurement methods such as the AFM technique allows for investigating the mechanical specifications of a single cell. Lekka et al. [5] studied the mechanical specifications of human bladder cancer cells for the first time. Other authors have achieved results using nanoindentation by AFM. Larger deformability of single cancerous cells can be shown based on future studies on cell mechanical specifications [6-9].

2. Experimental Method

2.1. Atomic Force Microscope (AFM)

Figure 1 displays an AFM system for a living cell indentation in contact mode. In the contact mode, the interaction force deflects the beam. The tip has a conical shape (figure 2). Based on Figure 3, when the AFM beam approaches the sample at a specific distance, the attractive force dominates the AFM beam spring constant, and the tip jumps into contact.

* Corresponding author. Tel.: +98-2177957717; Fax: +98-2177957717

E-mail address: a_sadeghi@damavandiau.ac.ir

DOI: <https://10.52547/masm.2.1.1>

Received: April 12, 2022; Received in revised form: May 14, 2022; Accepted: May 12, 2022

2022 Published by Arak University Press. All rights reserved.



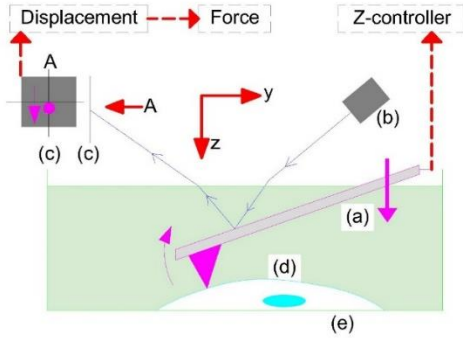


Figure 1. Schematic of atomic force microscope (AFM) for nanoindentation

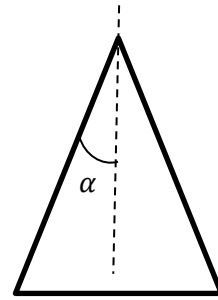


Figure 2. A conical tip as the AFM indenter

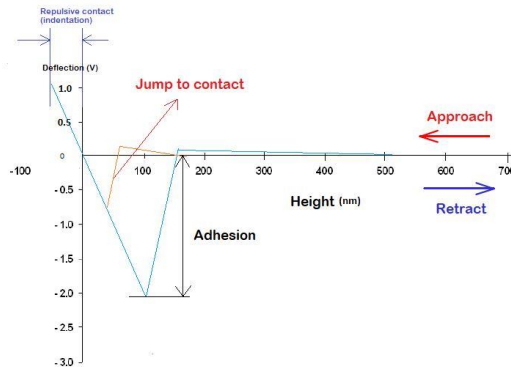


Figure 3. Approach and retraction strokes during AFM nanoindentation

2.2. Materials

Ago-1522 cell line as normal skin cell, was purchased from Pasteur Institute of Iran (Tehran, Iran).

2.3. Calculating mechanical specifications of living cells using AFM

A JPK Instruments-Nano Wizard 3 AFM (Germany, Figure 4) and APPNANO HYDRA6V-100NG-20 probe (the USA, Figure 5) were used to study the samples.



Figure 4. JPK Instruments-Nano Wizard 3 AFM

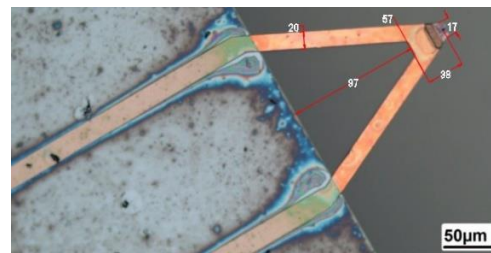


Figure 5. Silicon nitride V shaped AFM cantilever (APPNANO HYDRA6V-100NG-20)

3. Results and discussion

This study assessed the mechanical specifications of Ago-1522 cell line. The elasticity modulus and adhesion for the extend and retraction strokes were obtained separately. Tables 1 and 2 show the elasticity modules of cell for extend and retraction strokes respectively. Based on these tables the mean value for the elasticity modules for the extend and retraction strokes are 577.4 Pa and 12830 Pa respectively.

Table 1. Elasticity modulus of Ago-1522 cell line for extend regime

Cell line	Elasticity (Pa), min	Elasticity (Pa), max	Elasticity (Pa), mean
Ago-1522	300	800	577.4

Table 2. Elasticity modulus of Ago-1522 cell line for retraction regime

Cell line	Elasticity (Pa), min	Elasticity (Pa), max	Elasticity (Pa), mean
Ago-1522	6000	22000	12830

Table 3 and 4 display the adhesion for the Ago-1522 cell line for the extend and retraction strokes respectively.

Table 3. Adhesion of Ago-1522 cell line for extend regime

Cell line	Adhesion (N), min	Adhesion (N), max	Adhesion (N), mean
Ago-1522	0	0	0

Table 4. Adhesion of modules Ago-1522 cell line for retraction regime

Cell line	Adhesion (N), min	Adhesion (N), max	Adhesion (N), mean
Ago-1522	0	1.4×10^{-20}	2.112×10^{-21}

Figures 5 to 8 show the histogram for the variations of elasticity modulus and adhesion of Ago-1522 cell line in extend and retraction strokes.

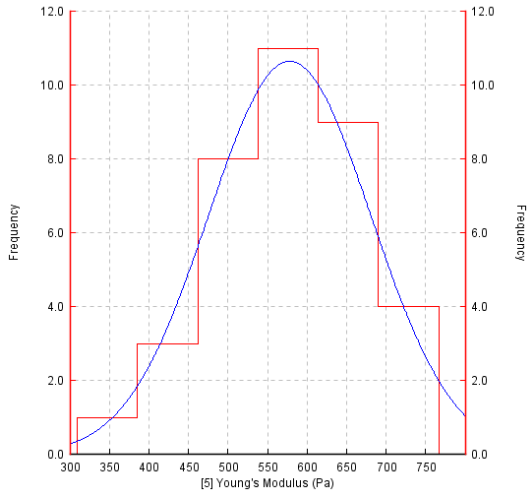


Figure 5. The histogram of the elasticity modulus Ago-1522 cell in extension regime

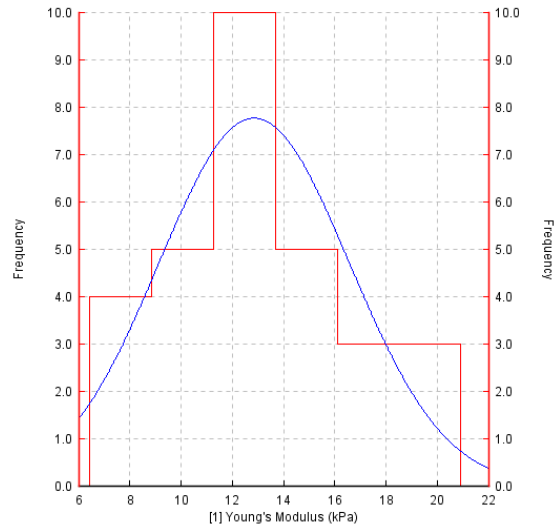


Figure 6. The histogram of the elasticity modulus Ago-1522 cell in retraction regime

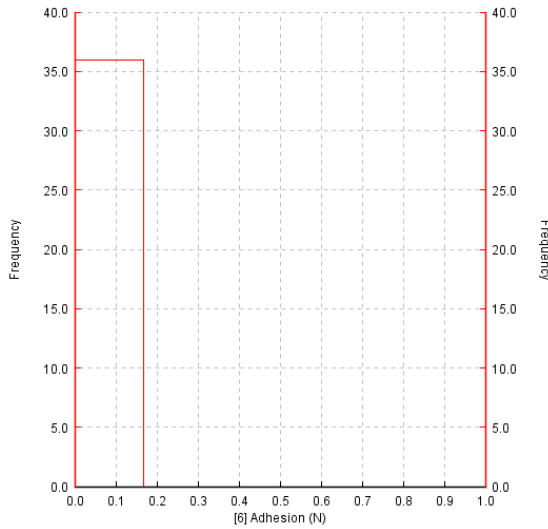


Figure 7. The histogram of the adhesion Ago-1522 cell in extend regime

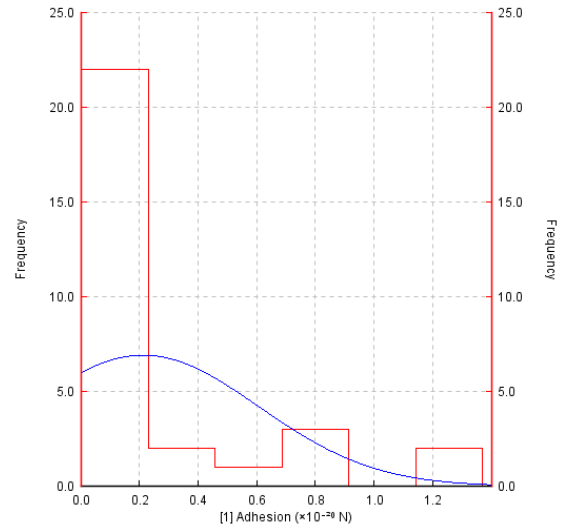


Figure 8. The histogram of the adhesion Ago-1522 cell in retraction regime

4. Conclusion

This study investigated the mechanical specifications of the Ago-1522 cell line. The elasticity and adhesion of the cell have been obtained in extend and retraction strokes respectively. The results show that the mean value for the elasticity modulus are 577.4 Pa and 12830 Pa for the extend and retraction strokes respectively. The adhesion is 2.112×10^{-21} N for the retraction strokes.



تعیین خواص مکانیکی سلول زنده Ago-1522 با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی

علی صادقی الف*، عادل پوراسماعیل فتیحه ب، متینه محسنی ج، فاطمه شهریزادگان د

الف استادیار، گروه مهندسی مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دماوند، دماوند، ایران، a_sadeghi@damavandiau.ac.ir
 ب کارشناسی ارشد، گروه مهندسی مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دماوند، دماوند، ایران، Adel_engineer69@yahoo.com
 ج کارشناسی، گروه بیومکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، matineh17.mohseni@gmail.com
 د کارشناسی، گروه بیومکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، neginsh7959@gmail.com

چکیده	واژگان کلیدی
به طور کلی، هر سلول طبیعی بدن انسان، که مشتمل بر قسمت‌های مختلفی همچون هسته، غشاء سلولی و نانوالیاف پروتئینی می‌باشد، دارای سختی و استحکام مکانیکی مشخصی است. هرگونه تغییر محسوس در این استحکام، نشان از یک بیماری دارد. یکی از راه‌های تشخیص بیماری‌های مختلف همچون سرطان در سلول‌های طبیعی بدن انسان، سنجش میزان تغییرات رخ داده در خواص مکانیکی آن‌ها می‌باشد. در مقاله حاضر، مشخصات مکانیکی شامل مدول الاستیسیته و نیروی چسبندگی سلول Ago-1522 که از سلول‌های طبیعی پوست محسوب می‌شود، با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی (JPK) (ساخت کشور آلمان) نوع نانوويزارد ۳، در هر دو مد نفوذی و بازگشتی و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به دست آمده‌اند. بر اساس نتایج مدول الاستیک، میانگین برای سلول موردنظر در مد نفوذی (به‌عنوان مد معتبر در گزارش‌ها) معادل ۵۷۷/۴ پاسکال می‌باشد. نیروی چسبندگی نیز در مد بازگشتی معادل $10^{-21} \times 2/112$ نیوتن می‌باشد. بر اساس تصاویر تهیه‌شده از سطح سلول با میکروسکوپ نیروی اتمی، حداکثر ارتفاع آن ۰/۴ میکرومتر می‌باشد.	میکروسکوپ نیروی اتمی، مدول الاستیک، نیروی چسبندگی، سلول زنده، خواص مکانیکی.
	تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۳
	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۱۴
	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۲

۱- مقدمه

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) که توسط بینینگ و همکارانش در سال ۱۹۸۶ اختراع شد [۱]، متشکل از یک میکروتیر با یک پروب^۱، یک آشکارساز حرکت میکروکنترلر، یک اسکنر سرامیکی پیزوالکتریک برای اسکن نمونه و یک ضبط کننده تصویر با کنترل کامپیوتر است. با استفاده از این میکروسکوپ، امکان ثبت فرآیندهای دینامیکی مولکول‌ها، اندام‌ها و سایر ساختارها در سلول‌های زنده وجود دارد. بنابراین، میکروسکوپ نیروی اتمی چشم‌انداز خوبی برای کاربرد در بیوپزشکی و پزشکی بالینی، به‌ویژه در تشخیص و درمان سرطان دارد [۲]. سرطان، ناشی از انحرافات ژنتیکی است که به‌طور خودبه‌خود و به‌صورت روزانه رخ می‌دهد. این بیماری پیچیده‌تر از هر بیماری دیگری است و بزرگ‌ترین چالش پزشکی ما به شمار می‌رود. در زمان‌های اخیر، سرطان به‌عنوان یکی از علل اصلی مرگ‌ومیر در کشورهای توسعه‌یافته مطرح شده است. طبق گزارش‌های انجمن سرطان آمریکا، در دو

^۱ Probe

دهه اخیر شواهد فراوانی وجود دارد که توانایی تشخیص سلول‌های تغییر یافته پاتولوژیک^۲ را بر اساس خواص مکانیکی آن‌ها نشان می‌دهد [۳]. چنین مطالعاتی با توسعه تکنیک‌هایی که اندازه‌گیری‌ها را در سطح تک‌سلولی ممکن می‌سازد، برای زیست‌شناسی و پزشکی جذاب‌تر شده‌اند. یکی از این تکنیک‌ها میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) است. در مقایسه با سلول‌های سالم، سلول‌های سرطانی دارای خاصیت فیزیکی منحصربه‌فردی هستند [۴]. در تکنیک AFM، تغییر شکل‌پذیری با مقدار مدول یانگ بیان می‌شود که اندازه‌گیری کمی از کشش سلولی را ارائه می‌دهد. این یک ویژگی بسیار موضعی است که معمولاً هنگام اندازه‌گیری یک سلول و همچنین در جمعیتی از سلول‌ها، اختلاف زیادی را نشان می‌دهد. تغییرات اخیر به ناهمگونی ساختارهای سلولی نسبت داده می‌شود. از سوی دیگر، باید به خاطر داشت که تعیین مدول یانگ با تکنیک AFM، تنها مقدار نسبی آن را ارائه می‌دهد. بنابراین، می‌توان آن را تنها برای مطالعات تطبیقی که در آن تمام شرایط تجربی حفظ شده است استفاده نمود. باین‌حال، شواهد جمع‌آوری شده ما را قادر می‌سازد که یک بیانیه کلی داشته باشیم که سلول‌های بدخیم/متاستاتیک^۳، به تنش اعمال شده به‌صورت کشسانی یا چسبناک‌تر واکنش نشان می‌دهند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سفتی سلول می‌تواند هم به‌عنوان یک نشانگر و هم به‌عنوان یک پارامتر تشخیصی برای بیماری زمینه‌ای، مورد استفاده قرار گیرد [۵]. نگان پان‌بنتاو و همکاران [۶]، زبری سطح سلول و سفتی نورون‌های تحت درمان با داروی شیمی‌درمانی «وین کریستین» را در زیر میکروسکوپ نیروی اتمی بررسی کردند و نتایج نشان داد که مدول الاستیسیته، ۲۱ الی ۴۵ درصد کاهش یافته است. ام‌هانگ و ام‌تسائی [۷] از یک میکروسکوپ نیروی اتمی و با دو نوع داروی ضد سرطان برای اندازه‌گیری منحنی نیروی سلول‌های سرطانی U937 استفاده کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان می‌دهد که روند منحنی نیرو در بین سه نوع سلول (سلول‌های گروه کنترل و دو نوع گروه‌های داروی ضد سرطان) متفاوت بود. ام‌لی و همکاران [۸]، تغییرات در مورفولوژی سلول و خواص مکانیکی سلول‌های لنفوم فردی را توسط AFM داروی آنتی‌بادی «مونوکلونال» هدفمند و دو نوع داروی شیمی‌درمانی (سیس‌پلاتین و سیتارابین) در طول کاربرد ریتوکسیماب^۴ اندازه‌گیری کردند. تصویربرداری AFM، تغییرات متمایز ناشی از تجزیه ساختارهای سلولی را نشان داد. هیستوگرام‌های آماری، زبری سطح سلول و خواص مکانیکی، به‌صورت کمی نشان داد که ریتوکسیماب می‌تواند اثرات کشنده داروهای شیمی‌درمانی در مقیاس نانو را که دارای پتانسیل بالایی هستند به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. درک خواص نانومکانیکی مانند مدول الاستیک، نیروی چسبندگی سلولی و سفتی سلول‌های سرطانی سالم، سرطانی و تحت درمان با دارو تحت ریزمحیط‌های مختلف، نقش مهمی در فرآیندهای سلولی مانند مورفوژن و انتقال مکانیکی، ایفا می‌کند. برونوسیلوپرا و همکارانش [۹]، تغییرات مورفولوژیکی و مکانیکی تولیدشده توسط کوئرتستین را در سلول‌های سرطانی مثانه T24 تجزیه و تحلیل کردند. کاهش بقای سلولی و تعداد سلولی پس از تیمار کوئرتستین به ترتیب در مقادیر ۴۰ میکرومولار و ۶۰ میکرومولار از داروی شیمی‌درمانی مشاهده شد.

در این مقاله مشخصات مکانیکی سلول Ago 1522 به‌عنوان سلول طبیعی پوست بررسی شده است. مشخصات مکانیکی سلول مورد نظر شامل مدول الاستیک و نیروی چسبندگی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی تعیین شده است. هر دو مد عملیاتی میکروسکوپ نیروی اتمی از جمله مدهای نفوذی و بازگشتی به‌صورت مستقل بررسی شده‌اند. این سلول به‌عنوان یکی از سلول‌های طبیعی مهم در پوست بدن انسان شناخته می‌شود که در مقاله حاضر برای نخستین بار، خواص مکانیکی آن مشتمل بر مدول الاستیک و نیروی چسبندگی تعیین شده است.

۲- مدل‌سازی

۲-۱- میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

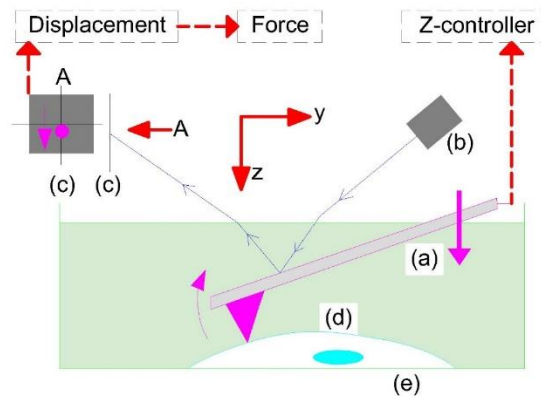
شکل ۱، یک سیستم AFM را برای فرورفتگی سلول زنده در حالت تماسی توضیح می‌دهد. در حالت تماس، نیروی اندرکنش

² Pathologic

³ Metastatic

⁴ Rituximab

باعث انحراف تیر می‌شود. ثابت فنر تیر می‌تواند نسبت نیرو به انحراف را تعیین کند. بر اساس نوع سلول هدف و نیروی برهم‌کنش، زاویه بازتاب لیزر را می‌توان تغییر داد. در نهایت، وضعیت نقطه پرتاب لیزر، به دلیل تغییر نیروی اندرکنش مابین میکروتیر و سطح نمونه، تغییر می‌کند. این تغییرات شدیداً به ثابت فنری میکروتیر وابسته است. در نتیجه، ثابت فنر تیر باید بر اساس نمونه هدف انتخاب شود.



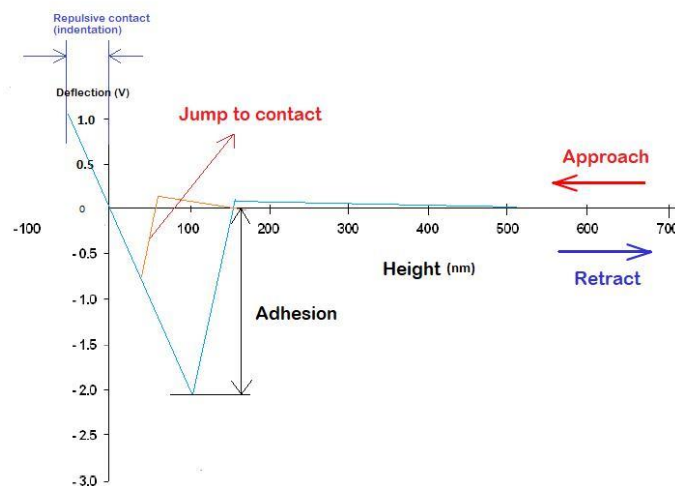
شکل ۱ شماتیک میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) برای فرورفتگی در مقیاس نانو

در طول تورفتگی، اندازه میکروتیر میکروسکوپ نیروی اتمی مهم‌تر از ابعاد سلول زنده است. به‌طور کلی، مدل هرتزی برای توصیف نیروی بین نوک میکروسکوپ نیروی اتمی و سلول زنده به‌عنوان نمونه استفاده شده است. با فرض شکل مخروطی برای فرورفتگی و با استفاده از نظریه تماس هرتزی، نیروی فرورفتگی را می‌توان به‌صورت زیر توصیف کرد:

$$F = \frac{E}{1 - \nu^2} \left(\frac{2 \tan \alpha}{\pi} \right) \delta^2 \quad (1)$$

F نیروی فرورفتگی، ν عدد پواسون و δ جابجایی در اثر فرورفتگی است. در طول فرایند فرورفتگی، می‌توان دو حالت مختلف یعنی نفوذ و بازگشت را در نظر گرفت. بر اساس شکل ۲، هنگامی که میکروتیر میکروسکوپ نیروی اتمی در فاصله‌ای خاص به نمونه نزدیک می‌شود، نیروی جاذبه بر ثابت فنر میکروتیر غلبه می‌کند و نوک، مماس بر سطح می‌شود.

با کم شدن فاصله، نیروی دافعه افزایش می‌یابد، اما هنگامی که میکروتیر میکروسکوپ از نمونه دور می‌شود، نوک بر اساس چسبندگی در تماس باقی می‌ماند. برای در نظر گرفتن چسبندگی در حین فرورفتگی، بهتر است از نظریه Derjaguin-DMT (DMT) Muller-Toporov استفاده شود. در واقع، نظریه تماس DMT یک نسخه اصلاح‌شده از نظریه تماس هرتزی، برای فرض چسبندگی نمونه است.



شکل ۲ نزدیک شدن و دور شدن در طول نانو تورفتگی میکروتیر

۲-۲- مواد

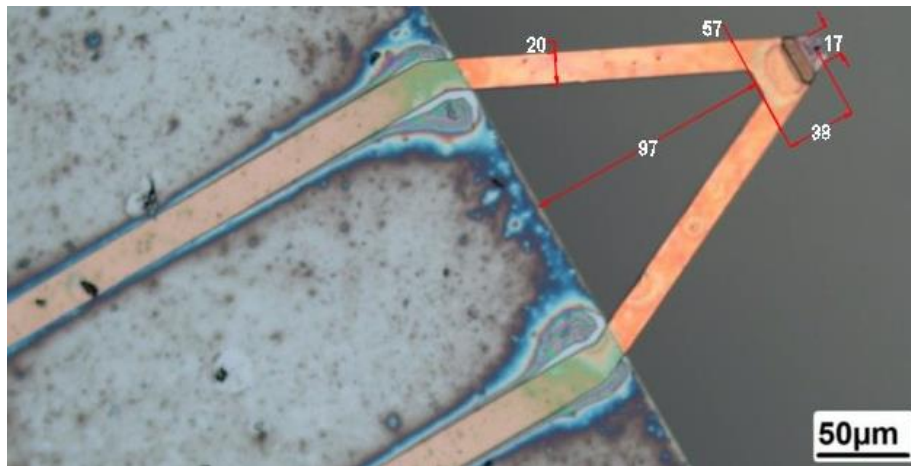
رده سلولی Ago 1522، به عنوان سلول طبیعی پوست، از انستیتو پاستور ایران (تهران، ایران) خریداری شده است.

۲-۳- محیط انجماد (Preservation) و محیط کشت

برای همه سلول‌ها، محیط انجماد (حفظ) شامل FBS (سرم جنین گاوی) و ۱۰٪ DMSO (دی متیل سولفوکسید) است. محیط کشت برای تمام سلول‌ها شامل DMEM (محیط Eagle اصلاح شده Dulbecco)، ۱۰٪ FBS (سرم جنین گاوی) و ۲ میلی‌مولار ال-گلوتامین^۵ است. تمام سلول‌های زنده باید در محیط ۵٪ گاز کربنیک انکوبه شوند.

۲-۴- محاسبه خواص مکانیکی سلول‌های زنده با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی

در این مقاله برای مطالعه روی نمونه‌ها از میکروسکوپ نیروی اتمی JPK (آلمان)، نوع نانویوزارد ۳ با پروب از نوع اپ نانو APPNANO HYDRA6V-100NG-20 (ایالات متحده آمریکا، شکل ۳) از جنس سیلیکون نیتريد استفاده شده است. همچنین، برای به دست آوردن خواص مکانیکی نرم‌افزار تخصصی میکروسکوپ JPK، ویرایش ۵.۰.۹۶ به کار رفته است. برای هر سلول، ۳ پتری دیش (قطر ۳۵ میلی‌متر) استفاده شده است. دستگاه به‌طور خودکار حدود ۳۶ فرورفتگی را به‌طور دقیق اسکن می‌کند و نرم‌افزار می‌تواند میانگین مدول الاستیسیته و مقادیر چسبندگی را محاسبه کند. دمای پتری دیش‌ها در حین آزمایش روی عدد ۳۷ درجه سلسیوس با استفاده از یک دستگاه گرمایشی اتوماتیک تنظیم شده است. برای هر ظرف، ۳ مرتبه آزمایش در نقاط مختلف تکرار شده است. مقادیر مدول الاستیک و نیروی چسبندگی برای هر ظرف با توجه به تعدد آزمایش‌ها، جداگانه تعیین و سپس مقدار میانگین برای آن‌ها با توجه به مقدار قرائت شده تعیین می‌شود. در تعیین مقادیر مدول الاستیک و نیروی چسبندگی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی برخی پارامترها از جمله کالیبره بودن میکروسکوپ، تنظیم دقیق دمای پتری دیش‌ها روی عدد ۳۷ درجه سلسیوس به‌عنوان دمای طبیعی سلول‌های زنده بدن انسان، انتخاب میکروتیر از برندهای معتبر و قابل اعتماد، کم کارکرد و تمیز بودن میکروتیر مورد استفاده و در نهایت تجربه و دقت اپراتور میکروسکوپ نیروی اتمی از عوامل مهم و تأثیرگذار بر دقت نتایج به‌دست‌آمده محسوب می‌شوند.



شکل ۳ میکروتیر وی شکل سیلیکون نیتريد از نوع اپ نانو (APPNANO HYDRA6V-100NG-20)

۳- نتایج و شبیه‌سازی

در این قسمت نتایج حاصل از آنالیز مکانیکی سلول هدف توسط میکروسکوپ نیروی اتمی مورد بررسی قرار می‌گیرد. شکل

⁵ L-Glutamine

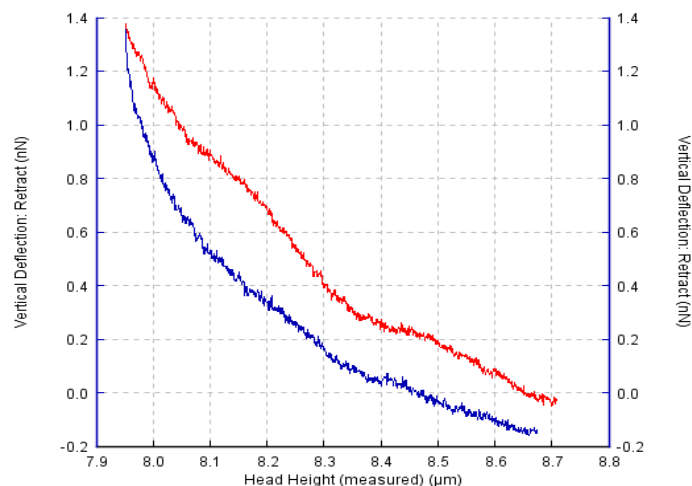
۴ میزان انحراف عمودی میکروتیر برحسب فاصله آن از سلول هدف را برای هر دو مد نفوذی (منحنی قرمز رنگ) و بازگشتی (منحنی آبی رنگ) نشان می‌دهد. نرم‌افزار تخصصی میکروسکوپ نیروی اتمی JPK ویرایش ۵.۰.۹۶ با استفاده از این نمودار و میانگین‌گیری در نقاط مختلف، قادر است مقادیر مشخصات مکانیکی سلول هدف را با دقت بسیار بالایی تعیین کند. بر مبنای جدول ۱، مدول الاستیک میانگین برای سلول هدف در مد نفوذی معادل ۵۷۷/۴ پاسکال و در مد بازگشتی ۱۲۸۳۰ پاسکال است. از آنجایی که صرفاً سفتی هسته سلول مورد نظر می‌باشد، مدول الاستیک در مد نفوذی قابل استناد است. این کمیت در مد بازگشتی به علت وجود نانو الیاف پروتئینی در لایه‌های مختلف از هسته تا غشاء سلولی، به صورت زیادی افزایش می‌یابد که در حقیقت این افزایش، کاذب بوده و صرفاً تأثیر نانو الیاف پروتئینی را بیان می‌کند و در اینجا جهت تکمیل نتایج آورده شده است. شکل‌های ۵ و ۶ هیستوگرام تغییرات مدول الاستیک را در دو مد نفوذی و بازگشتی در نقاط مختلف (۳۶ نقطه) بیان می‌کنند. بر مبنای تقریب گوسی، منحنی تغییرات را می‌توان در شکل‌های ۶ و ۷ ترسیم نمود. جدول ۲، مقادیر نیروی چسبندگی را در دو مد نفوذی و بازگشتی نشان می‌دهد. بر این مبنای نیروی چسبندگی در مد نفوذی عملاً ناچیز، اما در مد بازگشتی به علت وجود نانو الیاف پروتئینی مقدار میانگین نیوتن است. شکل‌های ۸ و ۹ هیستوگرام تغییرات نیروی چسبندگی در نقاط مختلف را برای مدهای نفوذی و بازگشتی نشان می‌دهند. شکل‌های ۱۰ و ۱۱ نیز نشان‌دهنده تصاویر دو و سه‌بعدی سلول هدف هستند. تصویر دوبعدی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی و تصویر سه‌بعدی با استفاده از نرم‌افزار Image J تهیه شده است. بر اساس این تصاویر حداکثر ارتفاع سلول، ۰/۴ میکرومتر می‌باشد.

جدول ۱ مدول الاستیک سلول هدف در مدهای نفوذی و بازگشتی

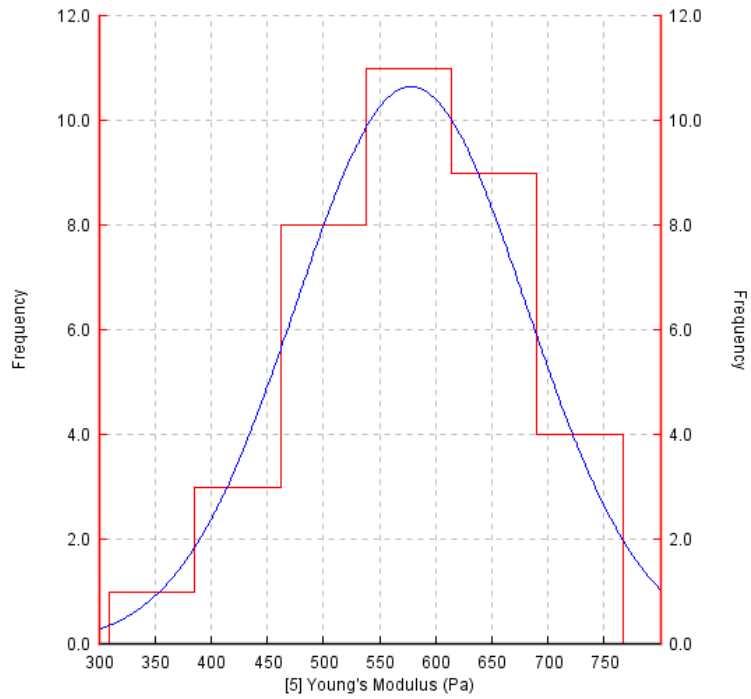
سلول هدف	نوع مد	مقدار کمینه مدول الاستیک (پاسکال)	مقدار بیشینه مدول الاستیک (پاسکال)	مقدار میانگین مدول الاستیک (پاسکال)
AGO-1522	نفوذی	۳۰۰	۸۰۰	۵۷۷/۴
AGO-1522	بازگشتی	۶۰۰۰	۲۲۰۰۰	۱۲۸۳۰

جدول ۲ نیروی چسبندگی سلول هدف در مدهای نفوذی و بازگشتی

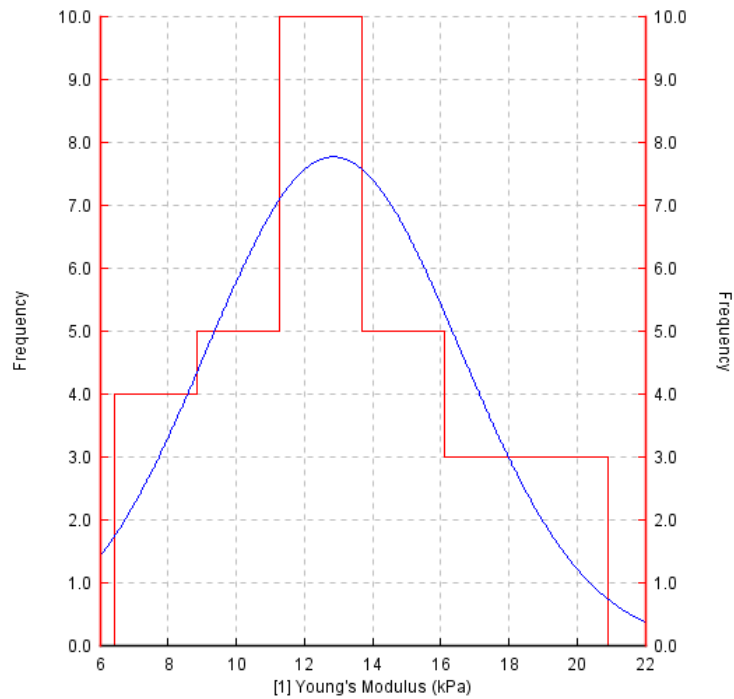
سلول هدف	نوع مد	مقدار کمینه نیروی چسبندگی (نیوتن)	مقدار بیشینه نیروی چسبندگی (نیوتن)	مقدار میانگین نیروی چسبندگی (نیوتن)
AGO-1522	نفوذی	۰	۰	۰
AGO-1522	بازگشتی	۰	$1/4 \times 10^{-20}$	$2/112 \times 10^{-21}$



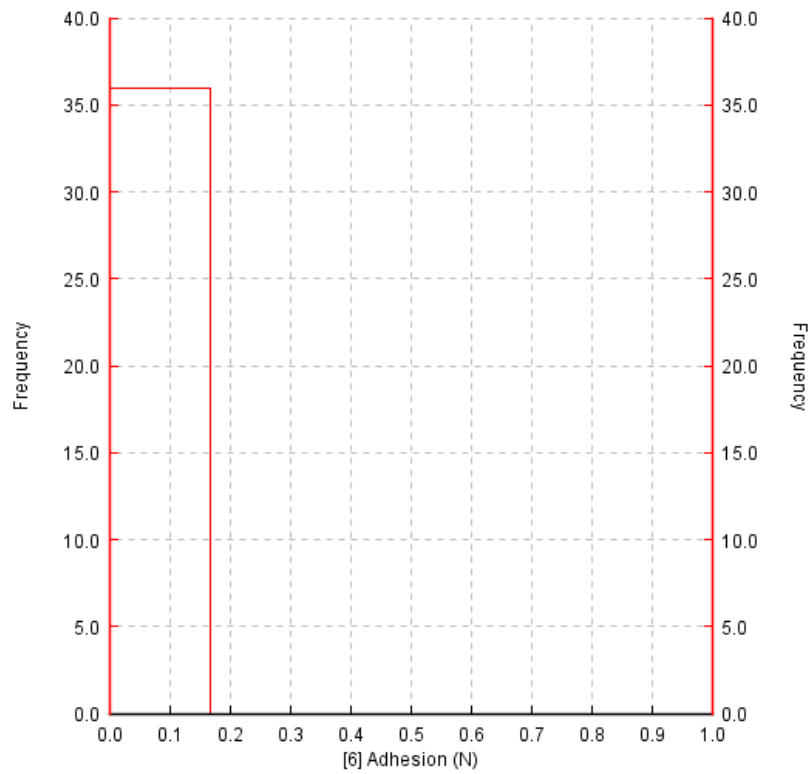
شکل ۵ نمودار انحراف عمودی میکروتیر بر حسب ارتفاع اندازه‌گیری شده آن تا سلول هدف برای مدهای نفوذی (قرمز رنگ) و بازگشتی (آبی رنگ)



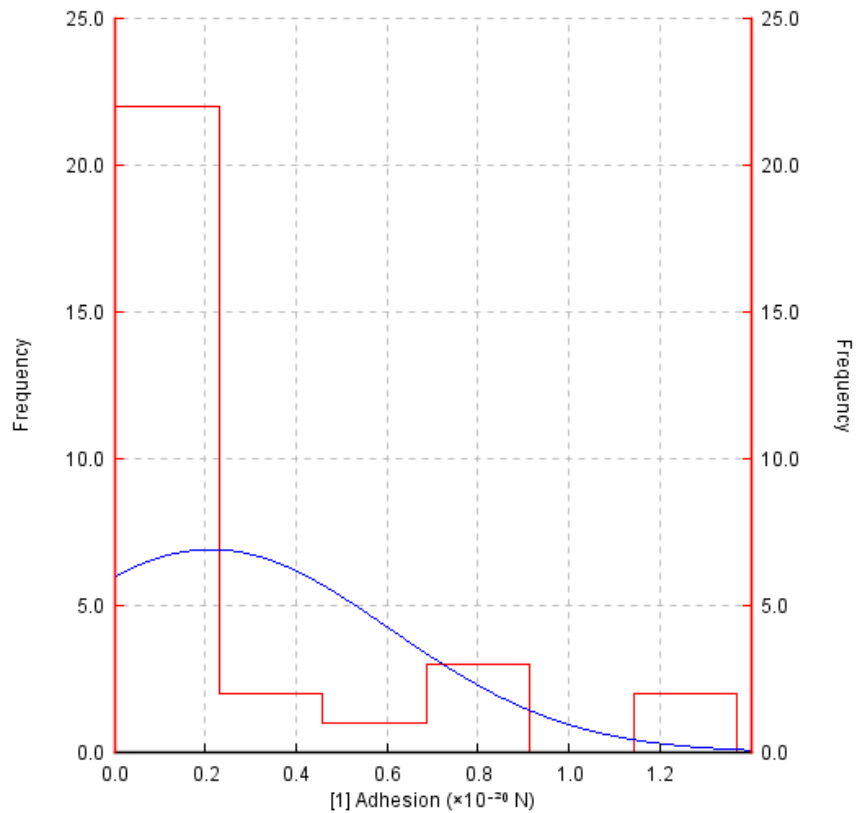
شکل ۶ هیستوگرام تغییرات مدول الاستیک سلول هدف در مد نفوذی و منحنی میانگین رسم شده بر اساس تقریب گوس



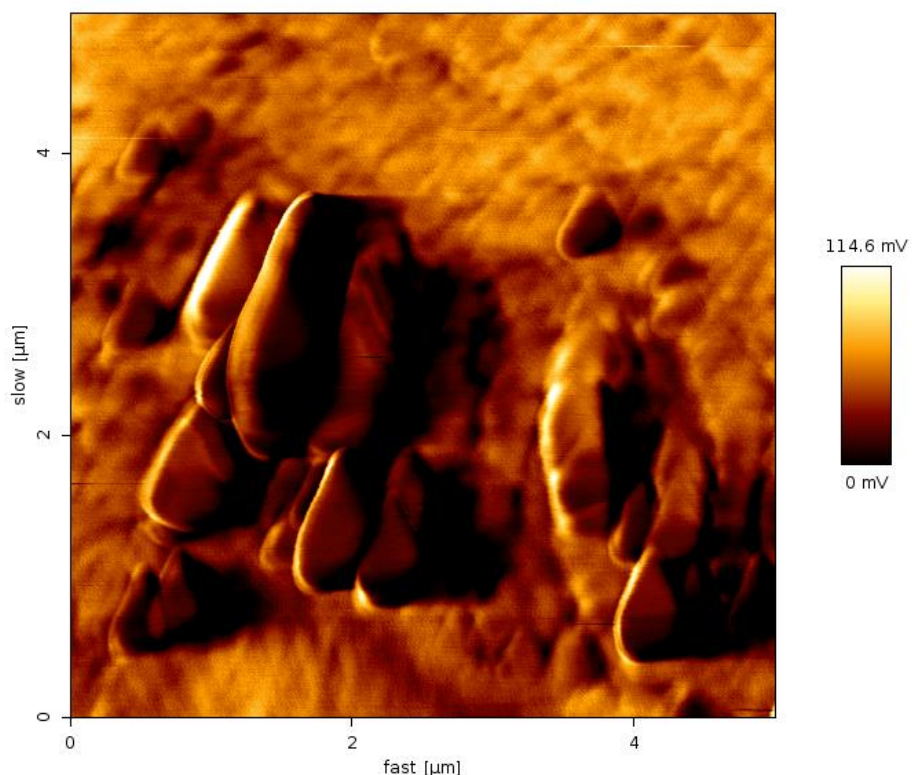
شکل ۷ هیستوگرام تغییرات مدول الاستیک سلول هدف در مد بازگشتی و منحنی میانگین رسم شده بر اساس تقریب گوس



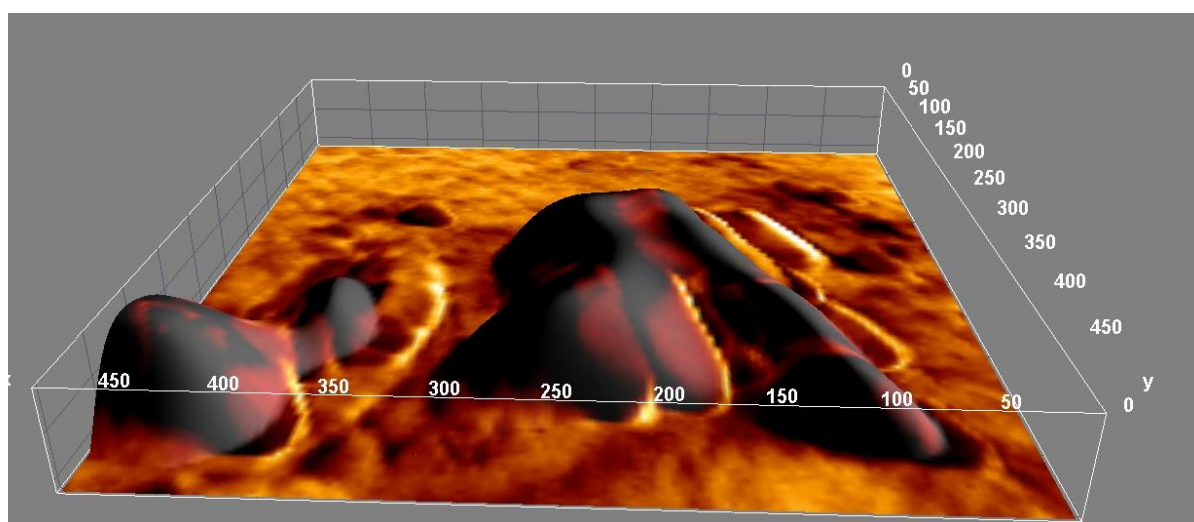
شکل ۸ هیستوگرام تغییرات نیروی چسبندگی سلول هدف در مد نفوذی و منحنی میانگین رسم شده بر اساس تقریب گوس



شکل ۹ هیستوگرام تغییرات نیروی چسبندگی سلول هدف در مد بازگشتی و منحنی میانگین رسم شده بر اساس تقریب گوس



شکل ۱۰ تصویر دو بعدی از سلول Ago-1522، تصویر برداری شده با میکروسکوپ نیروی اتمی جی بی کی نانوویزارد ۳



شکل ۱۱ تصویر سه بعدی از سلول Ago-1522، تصویر با استفاده از نرم افزار Image.J شبیه سازی شده است

۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، مشخصات مکانیکی سلول Ago-1522 به عنوان سلول طبیعی پوست بدن انسان مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا سلول مورد نظر در محیط کشت مناسب، کشت داده شد. سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی JPK نوع نانوویزارد ۳ در هر دو مد نفوذی و بازگشتی مورد آنالیز قرار گرفت. بر اساس نتایج، مدول الاستیک برای

سلول مورد نظر در مد نفوذی معادل ۵۷۷/۴ پاسکال بوده و نیروی چسبندگی برای آن در مد بازگشتی معادل $2/112 \times 10^{-21}$ نیوتن می‌باشد. تصاویر دو و سه‌بعدی تهیه‌شده از سطح سلول هدف، حداکثر ارتفاع آن را، ۰/۴ میکرومتر نشان می‌دهند.

۵- مراجع

- [1] Binnig G, Quate C F, Gerber C. Atomic force microscope. *Physical review letters*. 1986;56:930-934.
- [2] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144:646-674.
- [3] Jinka R, Kapoor R, Sistla P G, Raj T A, Pande G. Alterations in cell-extracellular matrix interactions during progression of cancers. *International journal of cell biology*. 2012;2012.
- [4] Lekka M. Discrimination between normal and cancerous cells using AFM. *Bionanoscience*. 2016;6:65-80.
- [5] Lekka M, Laidler P, Gil D, Lekki J, Stachura Z, Hryniewicz A Z. Elasticity of normal and cancerous human bladder cells studied by scanning force microscopy. *European Biophysics Journal*. 1999;28:312-316.
- [6] Au N P B, Fang Y, Xi N, Lai K W C, Ma C H E. Probing for chemotherapy-induced peripheral neuropathy in live dorsal root ganglion neurons with atomic force microscopy. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2014;10:1323-1333.
- [7] Hung M-S, Tsai M-F. Investigating the influence of anti-cancer drugs on the mechanics of cells using AFM. *Bionanoscience*. 2015;5:156-161.
- [8] Li M, Liu L-q, Xi N, Wang Y-c. Nanoscale monitoring of drug actions on cell membrane using atomic force microscopy. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2015;36:769-782.
- [9] Adami B S, Diz F M, Gonçalves G P O, Reghelin C K, Scherer M, Dutra A P, Papaléo R M, de Oliveira J R, Morrone F B, Wieck A. Morphological and mechanical changes induced by quercetin in human T24 bladder cancer cells. *Micron*. 2021;151:103-152.