

# КЛЕТКА КАК ЧУДО АРХИТЕКТУРЫ

## Часть 4. Натяжения цитоскелета контролируют архитектуру клетки и тканей

Ю. М. ВАСИЛЬЕВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

### THE CELL AS MIRACLE OF ARCHITECTURE Part 4. Cytoskeletal tension controls architecture of cells and tissues

Yu. M. VASILIEV

*Tension produced by interactions of actin and myosin molecules in cytoskeleton controls the organization of the extracellular matrix around the cell and reciprocally, is controlled by the rigidity of this matrix. Complex intracellular mechanisms regulate this tension. Tension may be one of the main factors integrating the organization of structures in a multicellular organism.*

*Изометрическое натяжение, создаваемое взаимодействием молекул актина и миозина в цитоскелете, контролирует организацию внеклеточного матрикса вокруг клетки и, в свою очередь, контролируется ригидностью этого матрикса. Это натяжение регулируется сложными внутриклеточными механизмами. Таким образом, возможно, что натяжение является одним из основных факторов, интегрирующих организацию структур многоклеточного организма.*

[www.issep.rssi.ru](http://www.issep.rssi.ru)

### ЧТО ТАКОЕ НАТЯЖЕНИЕ

В предыдущей статье [1] было рассказано о том, как цитоскелет определяет внутреннюю организацию каждой клетки. В этой статье я попытаюсь показать, что роль цитоскелета еще шире, что создаваемые им силы натяжения могут определять архитектуру многоклеточных образований — тканей и органов.

С незапамятных времен известно, что мышцы создают механическое натяжение. Если точка прикрепления мышцы подвижна, то это натяжение ведет к сокращению мышцы — такое натяжение называют изотоническим. Если эта точка неподвижна из-за сопротивления материала, к которому эта мышца прикреплена, то натяжение не приводит к сокращению мышцы — такое натяжение называют изометрическим. Пример изометрического натяжения — натяжение, которое создается в мышцах руки, тянущей ручку прочно запертой двери.

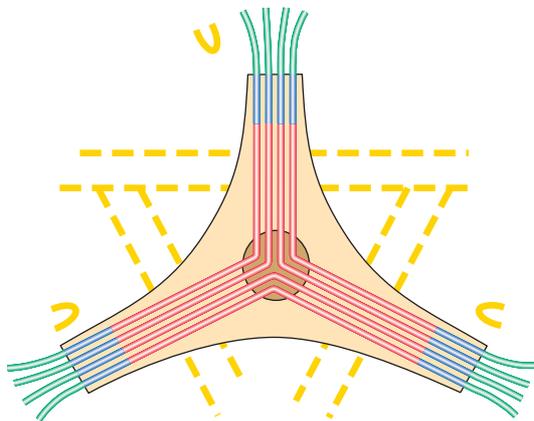
Актин и миозин есть не только в мышечных клетках, но и в большинстве других клеток эукариот. Чаше всего здесь эти нити лабильны — они постоянно разбираются и собираются [2, 3]. Какова функция таких структур, наполняющих клетки? Давно известно, что сокращение актин-миозиновых структур — сила, которая двигает ползающую клетку. С наружной стороны такая клетка прикрепляется к неклеточной подложке при помощи особой адгезивной структуры — фокального контакта [4]. На внутренней цитоплазматической стороне контакт соединяется с пучком актиновых микрофиламентов. Сокращаясь, этот пучок тянет тело клетки вперед.

Другой пример сокращения актин-миозинового пучка — цитокинез, последняя стадия клеточного деления, когда такой пучок образуется между двумя наборами хромосом. Сжимаясь, такое сократимое кольцо разделяет две дочерние клетки.

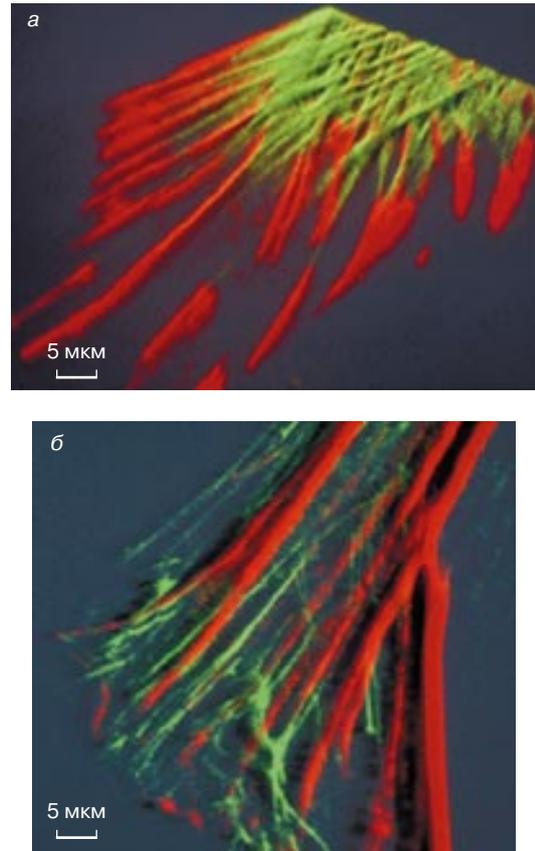
Когда клетка в культуре распластана [4], то есть прочно соединена контактами со всех сторон с дном культуры – подложкой, то соединенные с фокальными контактами пучки актиновых микрофиламентов сократиться не могут, их натяжение становится изометрическим. Такая клетка все время находится в напряженном, растянутом состоянии (рис. 1–3).

В организме большинство клеток, за исключением клеток, плавающих в крови или лимфе, прикреплено друг к другу и к фибриллам неклоточного матрикса. Поэтому в таких клетках, так же как и в клетках культуры, создается изометрическое натяжение. Зачем нужно такое натяжение и какую роль оно играет в клетках и тканях? Зачем нужно поддерживать натяжения, непрерывно тратя на это энергию АТФ?

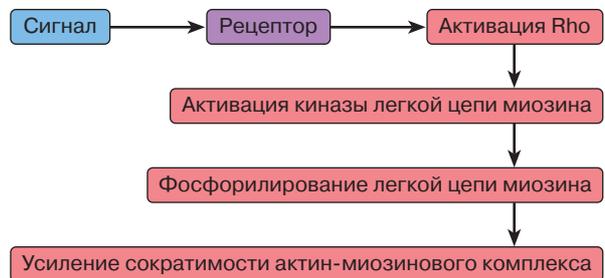
За последние годы стало ясно, что функции натяжения очень важны: оно контролирует в клетке многие процессы. Разберем ниже эти функции, но сначала коротко расскажем о том, как такое натяжение меряют, как оно возникает и регулируется. Точно мерить натяжение непросто. Пока наиболее употребительный метод – дать клеткам в культуре прикрепиться не к обычной подложке, твердому стеклу или пластику, а к эластичной тонкой пленке. Растянутая на такой пленке клетка пытается ее согнуть, пленка под клеткой образует складки, и по величине и крутизне этих складок можно оценить развиваемое клеткой натяжение (см. рис. 1). Метод непростой и не очень точный, но лучшего пока нет. Может быть, в ближайшем будущем кто-



**Рис. 1.** Упрощенная схема натяжений, развиваемых актин-миозиновыми пучками (красные линии) в клетке с тремя цитоплазматическими отростками. Концы актиновых пучков на краях отростков прикреплены к фокальным контактам (синие линии), соединяющим мембрану клетки с волокнами внеклеточного матрикса (зеленые линии). Через фокальные контакты натяжение актин-миозиновых пучков передается на нити матрикса



**Рис. 2.** Распределение актиновых пучков, фокальных контактов и волокон фибронектинового матрикса на краю культивируемого фибробласта. Фотографии сделаны при помощи конфокального лазерного микроскопа, дающего трехмерное изображение клеточных структур. Окраска при помощи антител, соединенных с флуоресцирующими красителями: а – актиновые пучки (зеленые), соединенные на краю клетки с фокальными контактами, окрашенными на характерный для них белок винкулин (красный). Темные участки – тени трехмерной картины; б – актиновые пучки (красные) и волокна фибронектина (зеленые) на краях клетки. Препараты В. Дугиной



**Рис. 3.** Упрощенная схема некоторых этапов регуляции актин-миозинового натяжения

нибудь изобретет идеальный силомер, который можно будет прикреплять к отдельной клетке, не повреждая ее.

## РЕГУЛЯЦИЯ АКТИН-МИОЗИНОВОГО НАТЯЖЕНИЯ В КЛЕТКАХ

Разумеется, для создания натяжения в пучках актиновых микрофиламентов нужно прежде всего создать такие микрофиламенты, то есть полимеризовать актиновую нить из отдельных молекул актина. В немышечных клетках постоянно идут полимеризация и деполимеризация актиновых нитей, причем новые нити создаются в определенных местах клеток, в особенности в участках под мембраной, где они заполняют выпячивающиеся псевдоподии. Об этом подробно рассказано в статье [3].

К сетям актиновых нитей присоединяются молекулы миозина. Предполагают, что натяжение, вызываемое взаимодействием актиновых нитей с молекулами миозина, вызывает превращение неориентированной актиновой сети в пучки. Процесс можно сравнить с натягиванием рыболовной сети — в результате веревки, из которых сделана сеть, ориентируются в направлении натяжения. Таким образом, здесь натяжение выполняет элементарную формообразующую функцию — вызывает появление в клетках пучков актин-миозина, то есть самоорганизует структуру, вызывающую это натяжение. Недаром самые мощные из таких пучков давно уже назвали фибриллами натяжения (стресс-фибриллами).

Взаимодействие актина с миозином в немышечных клетках является объектом сложной регуляции. Здесь центральную роль играет обратимое присоединение фосфата к одной из цепей молекулы миозина — легкой цепи (см. рис. 3). Фосфорилирование повышает способность миозина взаимодействовать с актиновой нитью, то есть сократимость актин-миозина. Фосфорилирование легкой цепи миозина катализируется специальным ферментом киназой легкой цепи миозина. Эта киназа, в свою очередь, активируется другим ферментом — Rho-киназой. Rho-киназа активируется, когда к ней присоединяется активная форма еще одного фермента — Rho, который катализирует распад GTP. Активация Rho через несколько промежуточных этапов может вызываться некоторыми сигнальными молекулами извне, действующими на клеточные рецепторы. Если подействовать на клетку молекулами, активирующими Rho, то в ней вскоре появятся мощные актиновые пучки и она начнет усиленно сгибать пленку, к которой прикреплена, то есть натяжение клетки резко усилится.

У Rho есть молекулы-родственники, также действующие на актиновый скелет, но по-другому. Например, молекула Rac не усиливает натяжения, но вызывает усиленное образование псевдоподий — полимеризацию ак-

тина. Rac также может активироваться внеклеточными молекулами через систему рецепторов.

Еще одна система, участвующая в регуляции натяжения, — система микротрубочек. Если избирательно деполимеризовать микротрубочки колхицином или сходным веществом [3], то натяжение актиновой системы резко усиливается. Вначале полагали, что микротрубочки в клетке действуют как палки, противодействующие сокращающему натяжению актина: ситуация, похожая на резиновый мешок, в который вставлены распирающие его палки. Однако сейчас становится ясно, что дело не в простом механическом действии или, по крайней мере, не только в нем. Появились данные, что рост микротрубочек в клетке как-то влияет на систему Rac—Rho, то есть на молекулярную регуляцию натяжения.

В целом эта регуляция позволяет клетке очень точно менять организацию цитоскелета и натяжений в зависимости от внешних воздействий: когда требуется выбрасывать псевдоподии на одном краю клетки и ориентировать пучки актин-миозина, чтобы ползти в нужном направлении, а когда внешние условия изменились — сделать поворот или вообще остановиться.

## НАТЯЖЕНИЕ КЛЕТКИ МЕНЯЕТ ОРГАНИЗАЦИЮ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА, И, НАОБОРОТ, ИЗМЕНЕНИЯ МАТРИКСА МЕНЯЮТ НАТЯЖЕНИЕ ЦИТОСКЕЛЕТА

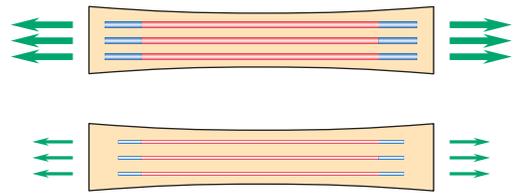
Вы уже знаете, что когда подложкой, к которой прикреплена клетка, делают эластичную пленку, то актин-миозиновое натяжение меняет эту подложку — сгибает ее в складки. В обычной культуре большинство клеток сами делают себе “матрац” — промежуточный слой между своей поверхностью и поверхностью дна пластикового или стеклянного сосуда, в котором они растут. Такой слой, называемый внеклеточным матриксом, образован переплетающимися волокнами, состоящими из особых белков, секретируемых клеткой. Самые известные из таких белков — коллагены разных типов. Все знают о коллагеновых волокнах в коже, рубцовой ткани, прослойках между мышцами. В культурах стандартные клетки, фибробласты, кроме коллагеновых волокон, быстро образуют еще и вторую сеть из нежных волокон, состоящих из другого белка — фибронектина. Эти нити диаметром около 5 нм часто располагаются не только вокруг клетки, но и прямо на ее поверхности, прикрепляясь концами к фокальным контактам с наружной стороны. С внутренней стороны мембраны к тем же контактам прикрепляются пучки актиновых микрофиламентов (см. рис. 2, б). Их натяжение через контакты натягивает и нити волокон матрикса, ориентируя их

параллельно друг другу. Недавно разработана методика, позволяющая наблюдать движения нитей матрикса в живой культуре. Для этого ген, кодирующий фибронектин, соединили с геном, кодирующим белок, флуоресцирующий зеленым светом. Этот экзотический белок, выделенный из тела медуз определенных видов, широко применяется в последние годы для метки разных белков в живой клетке. В данном случае зеленым сделали белок внеклеточного матрикса — фибронектин. Клетки, в которые ввели химерный (сшитый из двух генов) ген “зеленого” фибронектина, естественно, стали вокруг себя делать на своей поверхности фибронектиновые волокна, которые легко наблюдать в флуоресцентный микроскоп без всяких дополнительных обработок.

Оказалось, что нити фибронектина вокруг клетки не лежат без движения, но непрерывно движутся: перемещаются, натягиваются, прикрепившись к поверхности клетки, а оторвавшись от этой поверхности через несколько минут, сокращаются в четыре раза, иначе говоря, нити фибронектина ведут себя подобно узким эластичным резиновым нитям, способным удлиняться, когда их натягивают, и резко сокращаться, когда отпускают.

Работа [5] окончательно подтвердила, что клетка не только выделяет сеть волокон матрикса, но и непрерывно меняет организацию такой сети через натяжения цитоскелета и контакты. Образно говоря, клетка все время обрабатывает и контролирует архитектуру того “дома” из нитей матрикса, который она и ее соседи построили и в котором эти клетки живут.

Вместе с тем и обратное утверждение верно: не только структура матрикса контролируется натяжением цитоскелета, но и натяжение внутри клетки зависит от “сопротивления материала”, от подложки, к которой клетка прикреплена (рис. 4). Одно из доказательств этого тезиса было дано в опытах, где клетки сажали на два сорта подложек из коллагеновых волокон. Такие подложки получали, выливая раствор коллагена в чашки Петри и давая раствору затвердеть в гель — процесс, в принципе сходный с приготовлением студня в кулинарии; ведь основой студня также является желатин, то есть раствор коллагена. Часть затвердевших гелей оставляли в чашке Петри; здесь края геля были прикреплены к стенкам и дну чашки и поэтому были растянутыми, жесткими, несгибаемыми. Другие гели вырезали из чашки и позволяли им свободно плавать в жидкой среде. Такие гели были мягкими и легко сжимались. Когда клетки сажали на эти варианты коллагенового матрикса, результаты были разными: на закрепленном “ригидном” коллагене клетки делали большие актиновые пучки и контакты, то есть, по-видимому, развивали сильное изотоническое натяжение актинового цито-



**Рис. 4.** Цитоскелет и контакты точно адаптируются к сопротивлению материала матрикса, к которому клетка прикреплена. Сопротивление материала обозначено зелеными стрелками. Вверху — клетка на жестком матриксе: актиновые пучки (красные) и фокальные контакты (синие) хорошо развиты. Внизу — клетка на мягком матриксе: пучки и контакты развиты слабо

скелета. На мягком плавающем коллагене изменения не развивались; клетки сжимали гель, не делая больших актиновых пучков (см. рис. 4). Эти и другие подобные опыты показывают, что клетка чувствует сопротивление того материала, к которому прикрепляется, и перестраивает свой актиновый цитоскелет и контакты с этим матриксом в зависимости от такого сопротивления: чем жестче материал подложки, тем больше натяжение актин-миозина и тем прочнее и больше контакты. Мы еще не понимаем механизмов этих удивительных перестроек, которые могут быть очень быстрыми. Может быть, здесь включаются специальные рецепторы натяжений, реагирующие на растяжение мембраны клетки?

В некоторых случаях за быстрыми реакциями на натяжение следуют и более длительные и радикальные перестройки. Например, обычные фибробласты синтезируют так называемую немышечную форму актина, тогда как при некоторых условиях, в частности на жестком коллагене, клетки могут начать синтезировать другую, несколько отличную по структуре форму актина, так называемый гладкомышечный актин. Этот актин, встроившись в пучки микрофиламентов, развивает, взаимодействуя с миозином, более сильное натяжение. Такие изменившиеся фибробласты называют миофибробластами. Изучение механизмов этой сложной перестройки только начинается.

В целом, развивая и меняя натяжения, клетка непрерывно приспосабливается к своему окружению, матриксу, и приспосабливает структуру этого матрикса к себе. Структура каждой клетки и матрикса динамично взаимосвязаны. Через изменения матрикса каждая клетка может менять организацию других клеток, даже прямо не связанных с ней контактами. Такая взаимосвязь — основа единства клеток и матрикса каждой ткани, основа интеграции ткани в единое целое.

## НАТЯЖЕНИЕ ЦИТОСКЕЛЕТА И ИЗМЕНЕНИЯ ФОРМЫ ОРГАНОВ

Натяжение актин-миозина определяет организацию цитоскелета и контактов самой клетки и окружающего их матрикса в культуре. Естественно предположить, что натяжения клеток играют важную роль и в организме, в особенности в процессах морфогенеза, то есть в образовании и регенерации органов и других структур определенной формы. Простой пример морфогенеза — заживление наружной раны. В такую рану уже через несколько дней проникают из окружающих тканей фибробласты и сосуды, образуя так называемую грануляционную ткань. Фибробласты вырабатывают в ране фибронектиновый и коллагеновый матрикс, прикрепляются к нему и начинают синтезировать гладкомышечную форму актина. Развивая натяжение, эти миофибробласты сжимают матрикс и всю рану, которая позже полностью заживает в результате размножения эпителия кожи и других местных клеток (рис. 5).

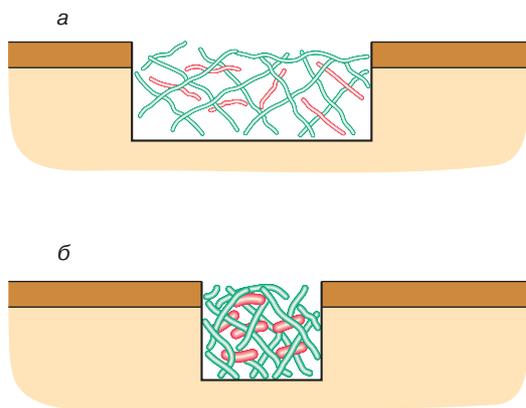
Сжатие миофибробластами раны — лишь один из случаев действия клеточных натяжений в организме. Можно думать, что натяжения цитоскелета играют критическую роль в развитии разных тканей и органов: образовании складок и выростов эпителиальных пластов, изменениях формы мышц, костей и т.д. За последние годы появилось много работ, где исследователи пытаются объяснить натяжениями клеток процессы развития. В частности, разработана детальная теория (или модель, как нынче модно говорить), которая объясняет натяжениями цитоскелета нервных клеток образова-

ние самого сложного по форме из существующих в природе органов — нашего мозга, например образование складок (извилил) коры головного мозга. К сожалению, все эти модели показывают лишь возможные пути развития органов, показывают только, где надо искать роль натяжений в развитии, какими должны бы быть натяжения клеток в развивающихся органах для того, чтобы придать этим органам свойственную им форму. Остается главное — показать, что такие натяжения цитоскелета действительно в клетках этих органов реально существуют и играют постулируемую теорией роль. Эта сложная работа только начинается.

## НАТЯЖЕНИЕ ЦИТОСКЕЛЕТА И КОРЕННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОГРАММ

Как мы знаем, клетки в организме и культуре способны под влиянием определенных сигналов переключаться с одной программы работы на другую: клетка может начать или прекратить размножение, превратиться из менее специализированной в более специализированную (дифференцироваться) и, наконец, включить программу самоубийства (апоптоза).

При каждой из таких перестроек меняется большинство синтезов и других биохимических процессов. В клетке происходит глобальная перестройка всей ее деятельности. Есть данные, которые позволяют предположить, что одним из факторов, вызывающих такие перестройки, могут быть изменения натяжения цитоскелета. Например, нормальные фибробласты, уплотненные и растянутые на подложке, активно размножаются, но стоит их отделить от подложки, как клетки сжимаются сокращением актин-миозиновых структур в шары и размножение прекращается, а нередко наступает и гибель “бездомной” клетки — апоптоз. Некоторые типы эпителиальных клеток, например клетки молочных желез, растянувшись на жестком коллагеновом геле, размножаются, но не синтезируют белки молока. Напротив, на плавающем мягком коллагене эти клетки сжимаются и начинают синтезировать специализированные белки, то есть дифференцируются. Какую конкретную роль играют изменения натяжения цитоскелета в этих перестройках клеток от размножения к гибели или дифференцировке? Это пока неясно. Сейчас многие исследователи начали активно работать в этой области.



**Рис. 5.** Схема сокращения раны натяжениями миофибробластов: а — кожная рана (эпидермис показан коричневым цветом), в которую выползли миофибробласты (красные), прикрепившиеся к образованной ими же сети волокон матрикса (зеленые); б — сокращение актин-миозинового цитоскелета миофибробластов и вызванное им сжатие сети волокон матрикса вызвали уменьшение площади раны

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие наших взглядов на архитектуру отдельной клетки можно условно разделить на три этапа. Сначала казалось, что клетка — это мешок, где стенка (мембрана) окружает жидкий бульон (цитозоль), в котором плавают отдельные “клетки” — органеллы (ядро,

митохондрии, лизосомы). На втором этапе было обнаружено несколько сетей фибрилл цитоскелета, проходящих через всю клетку от мембраны до ядра и направляющих движения органелл. И наконец, в последние годы начали понимать, что речь идет не о сети, но о динамичных фибриллах, которые развивают и передают механические натяжения. Клетка, кроме всего прочего, оказалась сложной системой сбалансированных сил. Некоторые ученые, например А. Харрис и Д. Ингбер в США, Л. Белоусов в нашей стране, уже давно говорили о роли таких натяжений, но их природа и значение становятся ясными лишь теперь. Человек тоже умеет делать постройки, где крыша из эластичной пленки растянута на опорах (вспомним легкие разбираемые выставочные павильоны). Однако конструкция клетки гораздо сложнее: ведь ее строительные элементы, нити цитоскелета, динамичны, они постоянно возникают и распадаются, а сила натяжений постоянно меняется под влиянием регуляторных систем, таких, как Rho и Rac.

Новые представления об организации цитоскелета начинают понемногу менять наши взгляды не только на структуру клетки, но и на происходящие в ней молекулярные процессы. Не могут ли изменения натяжений нитей цитоскелета быстро передавать непосредственно какие-то сигналы с одного конца клетки на другой? Не может ли передача сигналов с одной молекулы на другую осуществляться не при столкновениях молекул в растворе, а по цепи молекул, прикрепленных к нитям актина, причем изменения натяжения могут менять расположение этих молекул и целых органов?

Как меняются натяжения актин-миозиновой системы при опухолевых трансформациях клеток и как эти изменения отражаются на нарушениях клеточных регуляций? Эти предположения требуют проверки. Биологи начинают думать о клетке по-новому.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Васильев Ю.М.* Клетка как архитектурное чудо. Ч. 3. Клетка единая, но делимая // Соросовский Образовательный Журнал. 1999. № 8. С. 18–23.
2. *Васильев Ю.М.* Клетка как архитектурное чудо. Ч. 1. Живые нити // Там же. 1996. № 2. С. 36–43.
3. *Васильев Ю.М.* Клетка как архитектурное чудо. Ч. 2. Цитоскелет, способный чувствовать и помнить // Там же. № 4. С. 4–10.
4. *Васильев Ю.М.* Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток. II. Клетки строят ткань // Там же. 1997. № 5. С. 20–25.
5. *Ohashi T., Kiehart D., Erickson H.P.* Dynamics and Elasticity of the Fibronectin Matrix in Living Cell Culture Visualized by Fibronectin – Green Fluorescent Protein // Proc. Nat. Acad. Sci. 1999. Vol. 96. P. 2153–2158.

*Рецензент статьи Г.И. Абелев*

\* \* \*

Юрий Маркович Васильев, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры вирусологии МГУ, зав. лабораторией Всероссийского онкологического научного центра. Автор 200 научных работ, включая шесть монографий.