

Proyecto de Laboratorio 6 y 7 - 2022

Microimpresión de patrones moleculares sobre sustratos deformables para el estudio de adhesión celular y fuerzas de tracción

Estudiantes: Priscila Daiana Colombo y Gonzalo Javier Giordano

Directora: Dra. Lorena Sigaut

Co-directora: Dra. María Claudia Marchi

Lugar de trabajo: Centro de Microscopías Avanzadas, FCEN, UBA, dirigido por la Dra. Lía Pietrasanta

Resumen

Las técnicas para la localización controlada de proteínas sobre superficies sólidas a escala micrométrica, resultan de gran interés, en particular para el estudio de procesos biológicos, ya que la respuesta celular en procesos de adhesión, migración y proliferación celular se ven influenciadas tanto por la composición y distribución espacial de proteínas, así como de las propiedades mecánicas del microentorno. Una de las técnicas para localizar de manera controlada moléculas sobre superficies a escala micrométrica es la microimpresión por contacto, que consiste en la transferencia de moléculas desde un sello blando hacia un sustrato sólido por contacto entre ellos. El objetivo general del proyecto es desarrollar métodos que permitan cuantificar las fuerzas mecánicas ejercidas por células que están físicamente restringidas a tamaños y formas específicas en escala de micras, combinando la microimpresión por contacto y la microscopía de tracción. La microscopía de tracción celular posee la sensibilidad necesaria para medir la fuerza de tracción generada por la célula sobre un sustrato elástico y transparente en cuyo interior se encuentran nanoesferas fluorescentes que actúan como referencia. Si el sustrato es suficientemente blando, la fuerza que ejercen las células lo deforman, pudiéndose cuantificar el mapa de deformación del sustrato a partir de la localización de las nanoesferas fluorescentes, y reconstruir el mapa de fuerzas de tracción generada por la célula.

El objetivo del plan de trabajo es generar patrones moleculares de fibronectina a nivel micrométrico sobre sustratos deformables, con la finalidad de controlar la forma y adhesión de las células cultivadas y cuantificar las fuerzas de tracción generadas por las células sobre el sustrato. Para ello se propone la puesta a punto de la técnica de impresión por microcontacto sobre sustratos deformables aptos para la microscopía de tracción. Esto incluye el diseño y fabricación de patrones micrométricos mediante litografía por haz de electrones, generando una matriz que se empleará como molde para la fabricación de sellos elastoméricos. Se fabricarán y caracterizarán sustratos deformables de poliacrilamida de elasticidad controlada sobre los que se transferirán los micropatrones moleculares de fibronectina (proteína que favorece la adhesión celular). Las células cultivadas sobre estos sustratos se adherirán sobre los micropatrones de fibronectina, su localización se determinará a partir de microscopía confocal. De disponer de tiempo se realizarán experimentos de microscopía de tracción, en los que mediante técnicas de velocimetría por imágenes de partículas (PIV) se cuantificará la deformación del sustrato debido a las fuerzas de tracción ejercida por la célula.