Zmiany nanomechaniczne w komórkach zainfekowanych wirusem SARS-CoV-2

Agata Kubisiak1,\*, Agnieszka Dąbrowska2 , Tomasz Kołodziej1, Maksymilian Szczypior1, Zenon Rajfur1, Krzysztof Pyrć2, Marta Targosz-Korecka1

# 1Instytut Fizyki im. M. Smoluchowskiego, Uniwersytet Jagielloński, ul. Prof. St, Łojasiewicza 11, 30‑348 Kraków

2Małopolskie Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego,
Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków

\*autor korespondencyjny: agata.kubisiak@doctoral.uj.edu.pl

 Od dwóch lat wirus SARS-CoV-2 jest jednym z najważniejszych celów licznych badań prowadzonych przez naukowców z różnych dziedzin life science. W szczególności ważne jest poznanie mechanizmów i procesów odpowiedzialnych za indukcję i przebieg ciężkiego COVID-19, którego następstwem są powikłania wielonarządowe. Jak wykazano w licznych badaniach, komórki śródbłonka odgrywają ważną rolę w propagacji COVID-19 i rozwoju powikłań naczyniowych we wczesnej i późnej fazie infekcji wirusowej [1], [2].

 W niniejszej pracy koncentrujemy się na nanomechanicznych zmianach komórek śródbłonka indukowanych przez wirusa SARS-CoV-2. Wszystkie pomiary przeprowadzono dla pierwotnych komórek śródbłonka tętnicy płucnej (HPAEC) i ludzkich komórek nabłonka pęcherzyków płucnych z nadekspresją ACE2 (A549+/+). Dla bezpieczeństwa pracy zakażone komórki utrwalono paraformaldehydem, a wszystkie badania przeprowadzono dla utrwalonych próbek zgodnie z protokołem opisanym w [3]. Pomiary AFM zostały uzupełnione o metody biochemiczne (PCR, WB) i analizę fluorescencyjną, aby wykazać korelację między replikacją wirusa, strukturą cytoszkieletu i nanomechaniką komórki.

 Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na odmienny efekt nanomechaniczny w obu typach komórek w zależności od czasu inkubacji z wirusem oraz na bardzo różną intensywność namnażania wirusa w badanych próbkach biologicznych. W przypadku komórek nabłonkowych zaobserwowaliśmy zmniejszenie sztywności komórek, które koreluje ze wzrostem replikacji wirusa. Inkubacja komórek śródbłonka z SARS-CoV-2 prowadzi do zwiększonej sztywności komórek, mimo iż wirus nie replikuje skutecznie w tych komórkach. Wyniki uzyskane dzięki zastosowaniu AFM i mikroskopii fluorescencyjnej pozwoliły na stworzenie „mechanicznego modelu” przebiegu infekcji wirusowej zarówno w komórkach nabłonka, jak i śródbłonka.
Badania wykonano przy wsparciu finansowym ze środków Priorytetowego Obszaru Badawczego Anthropocene w ramach programu „Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza” w Uniwersytecie Jagiellońskim.