

Исследование топографии и механических свойств системы живая клетка — гидрогель методом сканирующей ион-проводящей микроскопии

Т.Н. Тихонова,^{1,*} А.В. Барковая,¹ В.В. Мамед-Набизаде,²
С.Т. Мацкеплишвили,³ Н.Н. Сысоев,¹ А.С. Ерофеев,² Е.А. Фадеев¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

²Университет науки и технологий МИСИС, лаборатория «Биофизика»
Россия, 119049, Москва, Ленинский проспект, д. 4, стр. 1.

³Медицинский научно-образовательный центр МГУ имени М.В. Ломоносова
Россия, 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 27, к. 10

(Поступила в редакцию 28.11.2024; после доработки 11.12.2024; подписана в печать 18.02.2024)

В настоящее время гидрогели вызывают все больший интерес благодаря своим уникальным характеристикам для использования в различных областях, таких как регенеративная медицина, 3D-культивирование клеток и доставка лекарств. Основной проблемой при применении гидрогелей в инженерии тканей является точная оценка их механических характеристик. В данной работе используется неинвазивный метод сканирующей ион-проводящей микроскопии (СИПМ), для определения жесткости живых клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, выращенных на мягком, самоорганизующемся гидрогеле из пептида Fmoc-FF. Модуль Юнга для клеток SH-SY5Y уменьшается с увеличением жесткости подложки, со значениями 1015 Па и 750 Па на чашке Петри и гидрогеле Fmoc-FF соответственно. Данный метод дает возможность одновременного исследования жесткости живых клеток и мягких гидрогелей, что является перспективным в области регенеративной медицины.

PACS: 87.85.J , 87.85.G, 87.17.Rt УДК:

Ключевые слова: гидрогель, сканирующая ион-проводящая микроскопия, клетка, механические свойства.

DOI: [10.55959/MSU0579-9392.80.2530701](https://doi.org/10.55959/MSU0579-9392.80.2530701)

ВВЕДЕНИЕ

Исследование свойств живых клеток, адгезированных на гидрогелях, является ключевым аспектом современной биомедицинской науки и инженерии [1–5]. Понимание того, как клетки взаимодействуют с их окружающей средой, имеет важное значение для разработки новых биоматериалов, улучшения методов тканевой инженерии и создания более эффективных систем доставки лекарств. Гидрогели — это трехмерные полимерные сети, представляющие собой уникальный класс материалов, обладающих способностью поглощать и удерживать значительные объемы воды, что делает их схожими по структуре с биологическими тканями. Благодаря своей способности имитировать физико-химические свойства внеклеточного матрикса, гидрогели предоставляют уникальную платформу для изучения механических взаимодействий между клетками и их окружением [6–8]. В последние годы наблюдается значительный прогресс в разработке гидрогелей с контролируруемыми механическими характеристиками, такими как жесткость, эластичность и вязкость. Эти свойства могут существенно вли-

ять на поведение клеток, включая их адгезию, пролиферацию, дифференцировку и миграцию. Гидрогели могут быть классифицированы на синтетические и природные [9]. Синтетические гидрогели, изготовленные из полимеров, например полиэтиленгликоль и полиакриламид, отличаются возможностью точной настройки механических свойств через изменение плотности сшивки. Природные гидрогели, такие как коллаген, эластин и фибрин [10–14], обладают биосовместимостью и биоактивностью, что часто улучшает адгезию и пролиферацию клеток. В настоящее время в регенеративной медицине растет интерес к гидрогелям на основе пептида Fmoc-FF [14–16]. Эти гидрогели, состоящие из самособирающихся пептидных нановолокон, представляют собой перспективные платформы для культивирования клеток благодаря своим уникальным свойствам [17, 18]. Мягкость гидрогеля Fmoc-FF точно воспроизводит механические характеристики природных тканей, что делает его привлекательным для различных приложений в инженерии тканей. Атомно-силовая микроскопия является золотым стандартом для оценки модуля Юнга биоматериалов [19]. В данной работе подробно исследуются механические свойства системы клетка — гидрогель с помощью альтернативного нового метода — сканирующей ион-проводящей микроскопии

* E-mail: tikhonova@physics.msu.ru

(СИПМ). И АСМ, и СИПМ обеспечивают визуализацию с высоким разрешением и возможность изучения биоматериалов в физиологических условиях. Однако главным достоинством АСМ является его способность измерять механические свойства гелей в широком диапазоне, от мягких до жестких биоматериалов. Основным преимуществом СИПМ является неинвазивность метода, что позволяет исследовать систему клетка — мягкий гидрогель в динамике на протяжении долгого времени, оценивая механические характеристики клеток после воздействия лекарственных препаратов, факторов роста или деградации гидрогеля, что невозможно с помощью АСМ [20–22].

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1. Приготовление образцов

Реактивы. Пептид N-фторенилметоксикарбонил-дифенилаланин (Fmoc-Phe-Phe-OH, Fmoc-FF) был приобретен у Sigma-Aldrich (США), модифицированная среда Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) была приобретена у Gibco (США).

Гидрогели. Гидрогель Fmoc-FF был приготовлен методом смены растворителя. Гидрогели по методу смены растворителя готовили следующим образом: пептиды растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) для получения исходного раствора, CFmoc-FF (исходный) = 10%, затем исходный раствор растворяли в mQ-воде до конечной концентрации CFmoc-FF = 0.6% [14]. После приготовления гидрогелей их тщательно промывали раствором буфера PBS в течение 2 дней, чтобы обеспечить полное удаление ДМСО [15] (для метода замены растворителя), а также для достижения pH гидрогеля 7.3 вместо pH 4 [17].

Культивирование клеток. Клеточные линии SH-SY5Y выращивали в полной культуральной среде DMEM («ПанЭко», Россия), содержащей 10% сыворотки (FBS) (Gibco, США), 1x PenStrep (Gibco, США) и 1x GlutaMax (Gibco, США) в стандартном культуральном инкубаторе с 5% CO₂ при температуре 37°C. Для окрашивания и последующего анализа клеток на выживаемость (live/dead test) клетки высевали на гели, сформированные на конфокальных чашках, в количестве 300 000 на чашку и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 24 ч. Клетки, посеянные на конфокальные чашки без геля, использовались в качестве контроля.

1.2. Сканирующая ион-проводящая микроскопия (СИПМ)

Для изучения топографии и механических свойств гидрогеля использовался метод СИПМ (ICAPPIC Limited, Великобритания). В экспериментах применялся инвертированный оптический

микроскоп Olympus IX73 (Япония). Использовался универсальный контроллер ICAPPIC и система пьезоконтроля (ICAPPIC Limited, Великобритания). Для изготовления боросиликатных пипеток (капилляров) использовался лазерный пуллер P-2000 (Sutter Instruments, США). Точное значение радиуса капилляра R определяли по формуле [22]:

$$I = \pi R k V \tan \alpha. \quad (1)$$

Здесь I — ионный ток, α — угол полуконуса пипетки, который был равен 3°, $k = 1.35$ Ом/м, а V — приложенное напряжение, которое в эксперименте составляло 200 мВ. Топографию гидрогеля исследовали в бесконтактном прыжковом режиме и размером сканирования 25×25 мкм. Конечное разрешение изображения составляло 256×256 пикселей. Для определения значений модуля Юнга гидрогеля использовалась эмпирическая формула [21]:

$$E = pA / (S_{substrate} / S_{sample} - 1). \quad (2)$$

где E — модуль Юнга, а A — константа, зависящая от геометрических характеристик капилляра. Геометрический параметр A для различных значений угла внутреннего полуконуса и толщины стенки пипетки представлен в таблице S1 в [21]. Капилляры использовались с радиусами $R = 40$ –55 нм, ионный ток менялся в диапазоне $I = 1800$ –2400 пА, коллоидное давление менялось в диапазоне $p = 8900$ –9900 Па. Приложенное давление обозначено как p , а $S_{substrate}$ и S_{sample} — наклоны кривых «ток–расстояние» для уменьшения ионного тока на 1% и 2% для подложки и образца соответственно. Наклоны кривой «ток–расстояние» определяются падением тока на 1% и 2% и индентациями подложки и образца $d_{подложка}$ и $d_{образец}$. Поскольку падение тока одинаково для подложки и образца, для получения механической карты необходимо регистрировать индентации подложки и образца при падении тока на 1% и 2%.

В нашем исследовании мы использовали уравнение (2) для определения давления p , коллоидного давления, которое было получено из ДЛФО теории, учитывающей внутреннее коллоидное давление, возникающее в межфазных слоях жидкости, когда они значительно сжимаются при приближении пипетки к образцу. В эксперименте давление p оценивалось на основе собственной силы, определенной Колмогоровым и другими [20]. Полученная формула для собственной силы F выражалась следующим образом: $F = 4\pi\sigma\sqrt{R\Delta d}$, где σ — коэффициент поверхностного натяжения, R — радиус капилляра, d — индентация. Коллоидное давление определяли как $p = F/S = F/\pi a^2$, где a — контактный радиус, $a = \sqrt{R\Delta d}$. При оценке среднего значения E для клеток на гидрогелях было проанализировано более 40 клеток.

1.3. Тест на выживаемость клеток (live/dead test)

Процент выживших клеток на гелях определяли путем окрашивания их двумя флуоресцентными красителями: C12 Resazurin — красный краситель, окрашивающий мембрану метаболически активных клеток, и DAPI — синий краситель, окрашивающий ДНК в клетках с поврежденной мембраной.

Гели готовили в стерильных условиях в конфокальных чашках Петри, затем промывали 5 раз буфером PBS в течение суток. После этого клетки высеивали на чашки из расчета 300 000 штук/чашку. Клетки инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 48 ч. По окончании инкубационного периода клетки окрашивали: DAPI (CDAPI=1 mM) и C12 Resazurin (Cres=0.5 mM); инкубация с красителями проводилась при 37°C, 5% CO₂ в течение 10 мин. Измерения в тестах на выживаемость проводили с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа (EVOS M5000 Imaging System, Thermo Fisher Scientific).

2. РЕЗУЛЬТАТЫ

2.1. Исследование топографии и механических свойств клеток SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри (контроль), методом сканирующей ион-проводящей микроскопии

Топография и распределение модуля Юнга клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри, представлены на рис. 1.

Исследования проводились с помощью сканирующей ион-проводящей микроскопии, а механические свойства рассчитывались с помощью коллоидного давления (см. материалы и методы). Топография контрольных клеток SH-SY5Y характеризовалась очень неравномерной клеточной поверхностью с различными микроворсинками, большими выступами и выпуклостями (рис. 1, а). Эти данные хорошо коррелируют с другими работами, проведенными по исследованию топографии клеток SH-SY5Y методом атомно-силовой и сканирующей электронной микроскопии [23].

Количественное картирование механических свойств клеток представлено на (рис. 1, б), среднее значение модуля Юнга составило $E = 1015 \pm 55$ Па.

2.2. Исследование топографии и механических свойств гидрогеля Fmoc-FF и клеток SH-SY5Y, помещенных на гидрогель, методом сканирующей ион-проводящей микроскопии

В данной работе впервые представлено распределение механических свойств системы клетка — мягкий гидрогель в водном растворе с нанометровым разрешением (рис. 2). На вставке рис. 2, а видна

морфология мягкого гидрогеля Fmoc-FF: биоматериал состоит из волокон с характерной длиной от нескольких до десятков микрометров и шириной волокна 150–250 нм. Эти данные хорошо согласуются с результатами конфокальной флуоресцентной микроскопии [24].

Количественное картирование механических свойств клеток представлено на (рис. 1, б), среднее значение модуля Юнга клеток составило $E = 750 \pm 75$ Па. При этом удалось оценить жесткость самого гидрогеля, который характеризовался модулем Юнга $E = 340 \pm 60$ Па. Надо отметить, что микроворсинки, которые были хорошо видны на жесткой подложке (чашке Петри), исчезали (или их количество значительно уменьшалось) на мягком гидрогеле. Следует отметить, что изображения (рис. 1, а и 2, а) были получены с одинаковым разрешением, с использованием капилляров с радиусами $R = 45$ нм, поэтому наблюдаемые изменения были обусловлены изменениями структуры клеток в результате изменения субстрата. Микроворсинки — это пальцеобразные выступы, форма которых контролируется актиновыми пучками [25]. Franchi и др. авторы с помощью СЭМ-анализа показали, что для раковых клеток MCF-7 плотные упакованные коллагеновые волокна, служившие субстратом для клеток, стимулировали развитие множества цитоплазматических микроворсинок, в отличие от низкоконцентрированного субстрата, покрытого коллагеном I типа, что согласуется с нашими наблюдениями [26].

2.3. Сравнение топографии и механических свойств клеток SH-SY5Y на контроле и гидрогеле Fmoc-FF

Сравнивая топографию клеток на чашке Петри (рис. 1, а) и гидрогеле (рис. 2, а), можно увидеть, что форма клеток SH-SY5Y изменяется: при размещении на жесткой чашке Петри клетки имеют более вытянутую и сплюсненную форму, тогда как при размещении на мягком гидрогеле клетки имеют округлую форму. Профили клеток, размещенных на чашке Петри и гидрогеле Fmoc-FF, представлены на рис. 3, а.

Для каждого образца было обработано более 40 клеток. На рис. 3, б представлена типичная гистограмма распределения модуля Юнга для клеток SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри (контроль, черные линии) и гидрогель Fmoc-FF (красные линии). Следует отметить, что распределение, соответствующее SH-SY5Y на системе гидрогеля Fmoc-FF, имело бимодальный характер, обусловленный двумя компонентами: клетками SH-SY5Y и гидрогелем. На рис. 3, в видно, что клетки, расположенные на жесткой подложке, характеризовались большим модулем Юнга по сравнению с клетками, расположенными на гидрогеле Fmoc-FF.

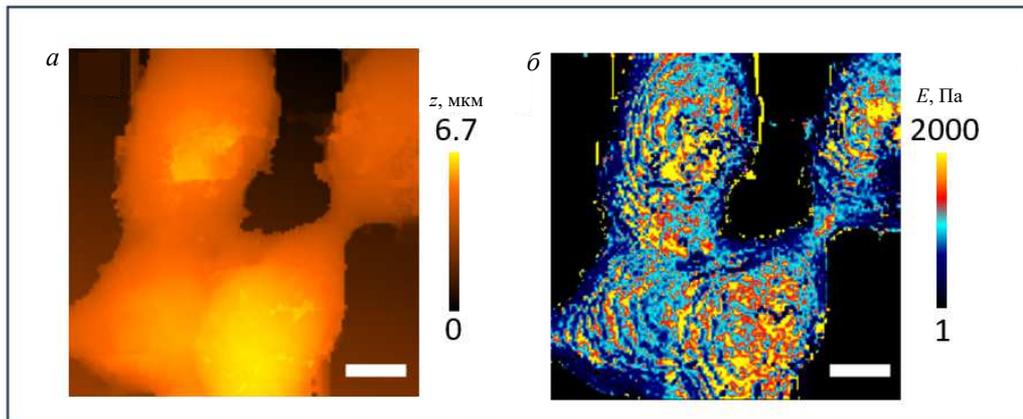


Рис. 1. *a* — Изображение СИПМ-топографии клеток SH-SY5Y, помещенных на культуральную чашку Петри; *б* — распределение модуля Юнга для клеток SH-SY5Y, помещенных на культуральную чашку Петри. Масштабный отрезок 5 мкм

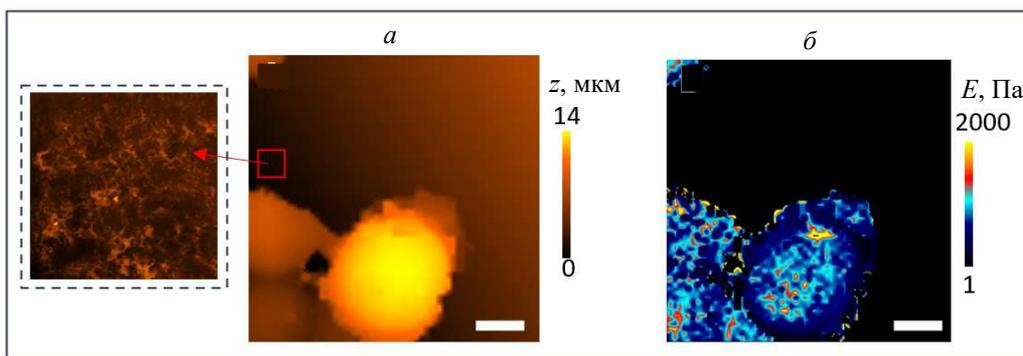


Рис. 2. *a* — Изображение СИПМ-топографии клеток SH-SY5Y, помещенных на гидрогель Fmoc-FF; *б* — распределение модуля Юнга для клеток SH-SY5Y, помещенных на гидрогель Fmoc-FF. CFmoc-FF = 0.6%. На вставке рис. 2, *a* изображена топография гидрогеля Fmoc-FF, полученная методом СИПМ. Масштабный отрезок 5 мкм

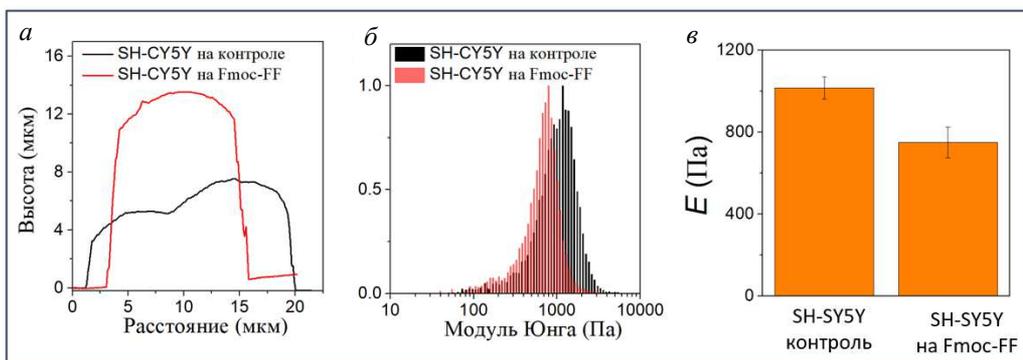


Рис. 3. *a* — Профили клеток SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри (черная линия) и гидрогель Fmoc-FF (красная линия); *б* — гистограмма распределения модуля Юнга для клеток SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри (контроль, черные линии) и гидрогель Fmoc-FF (красные линии); *в* — значения модулей Юнга клеток SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри и гидрогель Fmoc-FF

2.4. Выживаемость клеток SH-SY5Y, расположенных на контроле и гидрогеле Fmoc-FF

Клетки SH-SY5Y помещали на гидрогель Fmoc-FF, который формировали на конфокальных

чашках Петри, и промывали в течение 2 дней буфером PBS, чтобы удалить избыток ДМСО и установить pH гидрогеля на уровне 7.3 [17]. После этого образцы подвергались УФ-стерилизации. Через два дня был проведен тест на выживаемость (live/dead test) с использованием C12-резазурина,

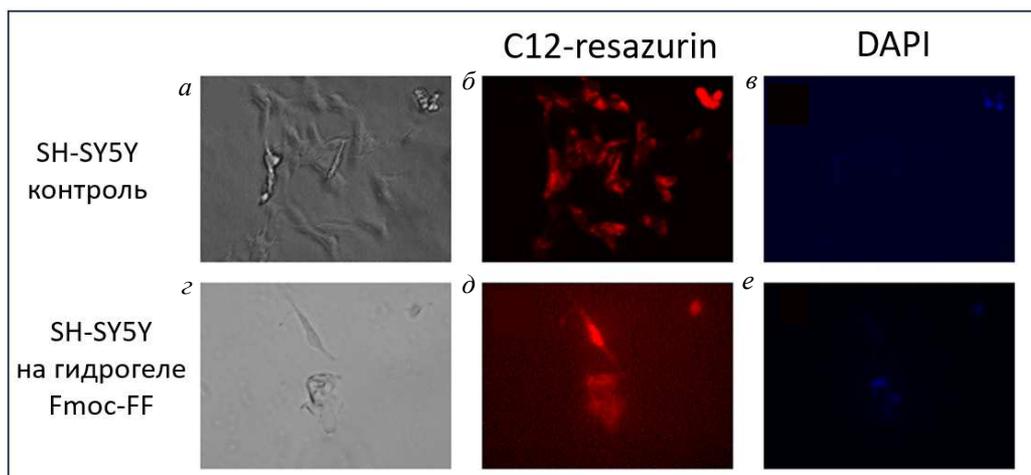


Рис. 4. Оптические изображения клеток SH-SY5Y на *a* — чашке Петри, *z* — гидрогеле Fmoc-FF. Флуоресцентное изображение мембран метаболически активных клеток, адгезированных на *б* — чашке Петри и *д* — гидрогеле Fmoc-FF. Флуоресцентное изображение клеток с поврежденной мембраной, адгезированных на *в* — чашке Петри и *е* — гидрогеле Fmoc-FF

красителя клеточных мембран, указывающего на метаболически активные клетки (красный), и DAPI, красителя ДНК, указывающего на мертвые клетки (синий) (см. рис. 4).

Live/dead test показал, что на гидрогеле Fmoc-FF преобладала популяция красных клеток. Однако было обнаружено и небольшое количество синих (мертвых) клеток (было изучено более 20 изображений, каждое из которых содержало около 50 клеток).

3. ОБСУЖДЕНИЕ

Основной целью данной работы было исследование топографии и механических свойств системы живая клетка — мягкий гидрогель с помощью СИПМ. Получено количественное наномеханическое распределение системы «клетки — мягкий гидрогель», см. рис. 2, б, что позволяет оценить механические свойства как мягкого биоматериала, так и расположенных на нем клеток. Были получены следующие значения модуля Юнга, полученные для клеток SH-SY5Y, помещенных на чашку Петри и на собирающийся гидрогель Fmoc-FF: 1015 ± 55 Па и 750 ± 75 Па. При этом жесткость самого гидрогеля составляла 340 ± 60 Па. Механические свойства клеток могут измениться из-за цитоскелетных изменений в ответ на жесткость подложек или это быть результатом вдавливания подложки, которая мягче самих клеток.

В экспериментах СИПМ при адгезии SH-SY5Y на мягких гидрогелях наблюдалось очевидное изменение формы клеток по сравнению с жесткой чашкой Петри (см. рис. 3). Круглая форма клеток, адгезированных на биоматериале, по сравнению с распластанной формой SH-SY5Y, размещенных на чашке Петри, может быть объяснена изменением жесткости подложки, согласуется с исследованиями пря-

мого влияния жесткости матрицы на форму клеток [27–29]. Было показано, что подобные изменения морфологии клеток в ответ на жесткость подложки связаны с изменением цитоскелета, в частности плотности и длины актиновых волокон. Здесь следует отметить, что не только жесткость подложки, но и различные функциональные группы, содержащиеся в гидрогелях Fmoc-FF и на культуральных чашках Петри, могут влиять на изменение формы клеток SH-SY5Y, что является еще одним фактором, влияющим на топографию клеток, адсорбированных на подложке [30]. Анализ биосовместимости (live/dead test) клеток SH-SY5Y на гидрогеле Fmoc-FF, CFmoc-FF = 0.6%, показал, что гидрогель Fmoc-FF плохо подходит для использования этого биоматериала в качестве скаффолда, т. к. при адгезии клеток на нем помимо метаболически активных клеток (краситель C12-resazurin) присутствовали и мертвые клетки (краситель DAPI). Для решения данной проблемы в гидрогель могут быть встроены вещества для увеличения выживаемости клеток такие. К таким веществам относится хитозан, который является полисахаридом, полученным из природного хитина, и привлекает внимание в области тканевой инженерии благодаря своей способности повышать жизнеспособность клеток [31], биосовместимости и биodeградируемости [32]. Кроме того, интересным представляется вопрос, является ли низкая биосовместимость геля с клетками результатом метода приготовления гидрогеля и наличия в его составе диметилсульфоксида (ДМСО), присутствие которого может пагубно сказываться на выживаемости клеток или же на данный параметр влияет пептидный состав гидрогеля. Для выяснения этого вопроса в дальнейшем предполагается использовать другой способ приготовления геля — методом смены pH среды и сравнить выживаемость клеток SH-SY5Y на гидрогелях Fmoc-FF, сформированных разными спо-

собами. Встраивание в структуру гидрогеля хитозана и использование другого метода формирования гидрогеля (метод смены pH) будут являться вопросом дальнейших исследований для улучшения биосовместимости гидрогеля Fmoc-FF с клетками SH-SY5Y.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе был использован неинвазивный метод — сканирующая ион-проводящая микроскопия, для исследования механических свойств системы «клетка — мягкий гидрогель» на примере клеток человеческой нейробластомы SH-SY5Y. Было получено распределение модуля Юнга системы «клетка — мягкий гидрогель» с высоким разреше-

нием в водном растворе, $R = 45$ нм. Такое измерение дает возможность изучить мгновенное изменение механических свойств клеток в ответ на поведение скаффолда. Проведенная процедура может быть адаптирована для исследования любой системы клетка — мягкий гидрогель с целью выявления наиболее биосовместимого мягкого гидрогеля для применения в регенеративной медицине.

Вся работа кроме экспериментов по оценке биосовместимости гелей выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 23-75-00007). Эксперименты по оценке биосовместимости гелей выполнены в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Фотонные и квантовые технологии. Цифровая медицина» (проект № 23-Ш06-03).

- [1] Liu Z., Tang M., Zhao J. et al. // *Advanced Materials*. **30**. 1705388 (2018).
- [2] Pina S., Ribeiro V.P., Marques C.F. et al. // *Materials*. **12**. 1824 (2019).
- [3] Tang Y., Wang H., Liu S. et al. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **220**. 112973 (2022).
- [4] Liang Y., He J., Guo B. // *ACS Nano*. **15**. 12687 (2021).
- [5] Borro B.C., Nordström R., Malmsten M. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **187**. 110835 (2020).
- [6] Lou J., Mooney D.J. // *Nature Reviews Chemistry*. **6**. 726 (2022).
- [7] Stowers R.S. // *Cells Tissues Organs*. **211**. 703 (2022).
- [8] Tayler I.M., Stowers R.S. // *Acta Biomaterialia*. **132**. 4 (2021).
- [9] Gyles D.A., Castro L.D., Silva J.O.C., Jr., Ribeiro-Costa R.M. // *European Polymer Journal*. **88**. 373 (2017).
- [10] Sun B. // *Materials*. **12**. 1824 (2019).
- [11] Gilaraska A., Lewandowska-Lancucka J., Horak W., Nowakowska M. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **170**. 152 (2018).
- [12] Halper J., Kjaer M. // *Progress in Heritable Soft Connective Tissue Diseases*. 31 (2014).
- [13] Nelson D.W., Gilbert R.J. // *Advanced Healthcare Materials*. 10(22). 2101329 (2021).
- [14] Basavalingappa V., Guterman T., Tang Y. et al. // *Adv. Sci.* **6**(12). 1900218 (2019).
- [15] Diaferia C., Ghosh M., Sibillano T. et al. // *Soft Matter*. **15**(3). 487 (2019).
- [16] Vitale M., Ligorio C., McAvan B. et al. // *Acta Biomater.* **138**. 144 (2022).
- [17] Tikhonova T.N., Kolmogorov V.S., Timoshenko R.V. et al. // *Cells*. **11**. 4137 (2022).
- [18] Tikhonova T.N., Cohen-Gerassi D., Arnon Z.A. et al. // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. **14**(50). 55392 (2022).
- [19] Marrese M., Guarino V., Ambrosio L. // *J. Funct. Biomater.* **8**. 7 (2017).
- [20] Kolmogorov V.S., Erofeev A.S., Woodcock E. et al. // *Nanoscale* **13**(13). 6558 (2021).
- [21] Rheinlaender J., Schaffer T.E. // *Soft Matter*. **9**(12). 3230 (2013).
- [22] Chowdhury T.K. // *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **2**(12). 1087 (1969).
- [23] Nissan I., Schori H., Kumar V.B. et al. // *Journal of Materials Chemistry B*. **5**(47). 9346 (2017).
- [24] Tikhonova T.N., Rubekina A.A., Vorobev V.A. et al. // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. **9**(1). 010304 (2023).
- [25] Gaeta I.M., Meenderink L.M., Postema M.M. et al. // *Curr. Biol.* **31**. 2561 (2021).
- [26] Franchi M., Masola V., Karamanos K.A. et al. // *Springer International Publishing: Cham*. 247-277. (2022).
- [27] Hogrebe N.J., Gooch K.J. // *J. Biomed. Mater. Res. A*. **104**. 2356 (2016).
- [28] Vernerey F.J., Sridhar S.L., Muralidharan A., Bryant S.J. // *Chem. Rev.* **121**. 11085 (2021).
- [29] Kloxin A.M., Kloxin C.J., Bouman C.N., Anseth K.S. // *Adv. Mater.* **22**. 3484 (2010).
- [30] Farzarian K., Ghahremaninezhad A. // *Gels*. **4**(3). 70 (2018).
- [31] Boido M., Ghibaudi M., Gentile P. et al. // *Sci. Rep.* **9**. 6402 (2019).
- [32] Ferreira D.P., Conceicao D.S., Calhelha R.C. et al. // *Carbohydr. Polym.* **151**. 160 (2016).

The investigation of topography and mechanical properties of the living cell — hydrogel system by scanning ion-conduction microscopy

T. N. Tikhonova^{1,a}, A. V. Barkovaya¹, V. V. Mamed-Nabizade², S. T. Matskeplishvili³, N. N. Sysoev¹, A. S. Erofeev², V. V. Fadeev¹

¹Department of Physics, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia

²Biophysics laboratory, NUST MISIS. Moscow 119049, Russia

³Lomonosov Moscow State University Medical Center. Moscow 119991, Russia

E-mail: ^a tikhonova@physics.msu.ru

Hydrogels are currently gaining interest due to their unique characteristics for use in various applications such as regenerative medicine, 3D cell culturing and drug delivery. The main challenge in the application of hydrogels in tissue engineering is the accurate assessment of their mechanical characteristics. In this work, a non-invasive scanning ion-conduction microscopy (SICM) method is used to determine the stiffness of living human neuroblastoma SH-SY5Y cells grown on a soft, self-organizing hydrogel made of Fmoc-FF peptide. Young's modulus for SH-SY5Y cells decreases with increasing substrate stiffness, with values of 1015 Pa and 750 Pa on petri dish and Fmoc-FF hydrogel, respectively. This method enables simultaneous investigation of the stiffness of living cells and soft hydrogels, which is promising in the field of regenerative medicine.

PACS: 87.85.J , 87.85.G, 87.17.Rt

Keywords: hydrogel, scanning ion-conduction microscopy, cell, mechanical characteristics.

Received 28 November 2024.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2025. **80**, No. . Pp. .

Сведения об авторах

1. Тихонова Татьяна Николаевна — канд. физ.-мат. наук, мл. науч. сотрудник; e-mail: tikhonova@physics.msu.ru.
2. Барковая Анастасия Вадимовна — студентка; e-mail: anastasia.bark18@gmail.com.
3. Мамед-Набизаде Вугара Вугаровна — мл. науч. сотрудник; e-mail: vugara2003@yandex.ru.
4. Мацкеплишвили Симон Теймуразович — доктор медицинских наук, зам. директора по научной работе; тел.: (495) 531-27-27, e-mail: simonmats@yahoo.com.
5. Сысоев Николай Николаевич — доктор физ.-мат. наук, профессор; тел.: (495) 939-12-07, e-mail: nn.sysoev@physics.msu.ru.
6. Ерофеев Александр Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, зав. лабораторией; e-mail: Erofeev.AS@misis.ru.
7. Фадеев Виктор Владимирович — доктор физ.-мат. наук, профессор; e-mail: victor_fadeev@mail.ru.