

文章编号 :1004-0374(2011)01-0045-06

机械力影响胚胎干细胞结构、形态和分化的研究进展

高春英, 吴易潘, 冯喜增*

(南开大学生命科学学院, 生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

摘要: 胚胎干细胞的生长、增殖、分化和形状改变等过程受微环境、机械力等多种因素的影响。胚胎干细胞能够感知微小机械力刺激, 并将其转化成生物化学信号, 进而通过 F-肌动蛋白、肌球蛋白-II、Cdc42、Rho 和 Src 等产生一系列分子水平的应答反应, 最终导致基因差异表达。胚胎干细胞应答外力基本过程的研究对于胚胎早期发育和分化机制研究、克隆和再生药物的研制与开发等均有重要意义。该文就机械力对胚胎干细胞结构、形态和分化的影响及其潜在机制等进行论述。

关键词: 胚胎干细胞; 细胞柔软性; 基底; 机械应答; 力学转导

中图分类号: Q813; Q786 文献标识码: A

Progress of mechanical force affecting embryonic stem cells' structure, shape and the differentiation

GAO Chun-Ying, WU Yi-Pan, FENG Xi-Zeng*

(Key Laboratory of Bioactive Materials, Ministry of Education, College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: The growth, proliferation, differentiation and the shape of the embryonic stem cells were influenced by many factors such as microenvironment, mechanical stress and so on. Embryonic stem cells could perceive tiny mechanical stimulus, change it into biochemical signal and make a serious molecular response by means of F-actin, myosin-II, Cdc42, Rho and Src. These response lead to difference in gene expression. The research of how embryonic stem cells response to the mechanical stress is of great importance to the early embryo growth and differentiation, the manufacture of cloning and regenerative medicine. This paper reviewed the influence of mechanical stress to the structure, the morphology and the differentiation of embryonic stem cells as well as potential mechanism in this process.

Key words: embryonic stem cells; cell softness; substrate; mechanical response; mechanotransduction

生命起源于胚胎干细胞, 生物的多样性也源于胚胎干细胞的多能性。胚胎干细胞是受精卵分裂发育成囊胚时的内细胞团细胞, 具有自我更新能力和多向分化潜能。在一定条件下, 胚胎干细胞能分化成骨、软骨、肌肉、血管和神经等具有特定功能的成熟组织细胞。胚胎干细胞由于其自身的多向潜能性和在医疗领域的潜在应用价值^[1,2], 已成为当今生物学研究中的焦点, 其可作为细胞分化和发育调控机制的体外研究模型^[3,4], 也被用作组织工程器官修复与移植的种子细胞^[5]。在生物体内环境中, 控

制胚胎干细胞的存活、增殖和分化是一项极具挑战的研究。2008年报道的气管移植手术的成功^[6]和2009年报道的用胎儿神经干细胞移植治疗小脑毛细血管扩张失调手术的失败^[7]都说明, 干细胞移植后, 细胞本身和由其分化的细胞系会受到体内各种

收稿日期: 2010-06-07; 修回日期: 2010-07-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(81071260); 天津市应用基础及前沿技术计划(10JCZDJC17000)

* 通讯作者: E-mail: xzfang@nankai.edu.cn

物理和化学因素的影响。因此,植入细胞的长期稳定性和有效性是临床应用成功的关键。各种理化因素,如可溶性因子、机械力、材料体系等^[8-10]对胚胎干细胞的基础研究和应用有重要影响。2010年,Chowdhury等^[11]的研究证实:给胚胎干细胞施加一个微小的机械力也能引起胚胎干细胞强烈的生物学反应,并引导其向特殊的方向分化,这提示局部微小机械力对柔软胚胎的早期发展有非常重要的作用。

2 机械力对胚胎干细胞分化及功能的重要影响

生物体从器官、组织到细胞各个层次上的生命运动均是在一定力学环境中进行的,生物体的形态、结构和功能也与其所处的力学环境密切相关。微环境主要包括细胞周围的生长因子、细胞与细胞之间的相互作用以及细胞与基底之间的相互黏着(图1)^[8]。细胞周围适宜的力学微环境不仅对组织细胞的存活、增殖和发挥正常功能是至关重要的,而且能决定胚胎干细胞的命运。

机械力在胚胎发育过程中发挥着重要作用,未分化细胞能感知周围环境的机械力并根据其刺激的不同而向不同的方向分化,但以目前的研究手段来看,在胚胎早期分化过程中不能接近动物胚胎干细胞,所以目前研究体内干细胞对力的敏感性还有一定难度。体外研究实验表明,对干细胞定向或定量的施加局部剪切力后,细胞可以通过改变形状、分布和功能来应答机械力,如Kurpinski等^[12]对间充质干细胞进行循环同轴拉伸,促进了细胞增殖和平滑肌细胞标记物的表达;Adamo等^[13]研究表明,流过造血干细胞的流体剪切应力能促进胚胎造血功能;Chowdhury等^[11]的研究也证明人为施加局部应

力对胚胎干细胞的形态有重要的诱导作用。此外,通过人为施加机械力的体外实验可以模拟生理条件下疾病的发生过程。Belousov和Ermakov^[14]发现,用机械力刺激早期胚胎能导致胚胎轴发育错位;Lang等^[15]证明微重力条件能导致骨细胞流失。以上这些体外实验为病理机制和治疗手段的研究提供增殖和分化过程中必不可少的机械力刺激,从而影响细胞的结构和功能。对于体外培养的细胞来说,基底的大小、硬度和形状都会对细胞的增殖或分化产生重要影响。Evans等^[16]在不同硬度的聚二甲硅氧烷基底上培养胚胎干细胞,结果表明基底的硬度虽然不影响细胞的黏附,但影响细胞的铺展和生长状况,而且在坚硬基底上培养的胚胎干细胞向成骨细胞分化的能力比在柔软基底上强,这证明机械力学环境在胚胎干细胞分化的早期和晚期均发挥重要作用。McBeath等^[17]用微接触印刷法控制细胞的生长面积结果表明,在面积较小的基底上培养的间充质干细胞分化为脂肪细胞,而在面积较大的基底上培养的则分化为成骨细胞(图2-I)。

不同硬度的基底能够诱导胚胎干细胞分化成具有不同功能的组织细胞,胚胎干细胞在硬度由高到低的基底上分别分化为成骨细胞、成肌细胞和神经细胞(图2-II)。在极度柔软的基底上正常细胞不能生长分化,只有肿瘤细胞能够生长,用这种方法可以从组织细胞悬液中筛选出癌细胞^[18]。胚胎干细胞在分化过程中对基质硬度很敏感^[19],这对于体外培养胚胎干细胞和诱导胚胎干细胞多向潜能性有重要意义。此外,细胞培养基底形状的不同对细胞增殖也有重要影响,Nelson和Bissell^[20]分别在圆形和方形培养皿中培养相同的细胞,结果发现在牵引力大

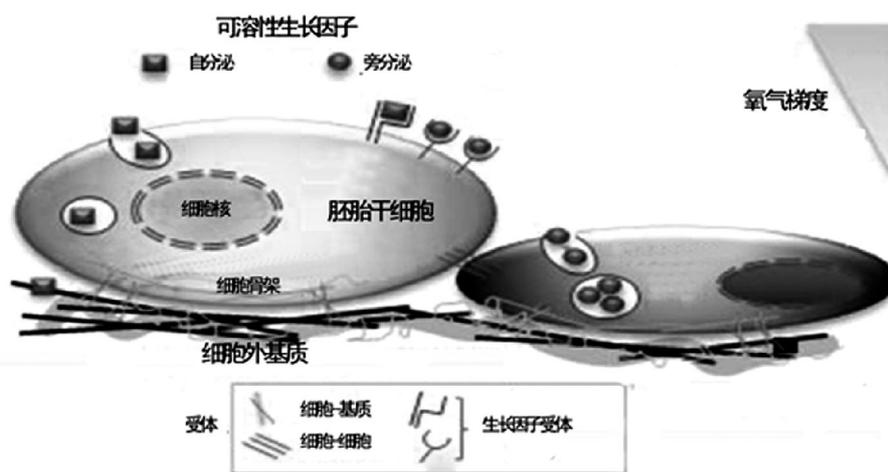


图1 细胞微环境的主要成分^[8]

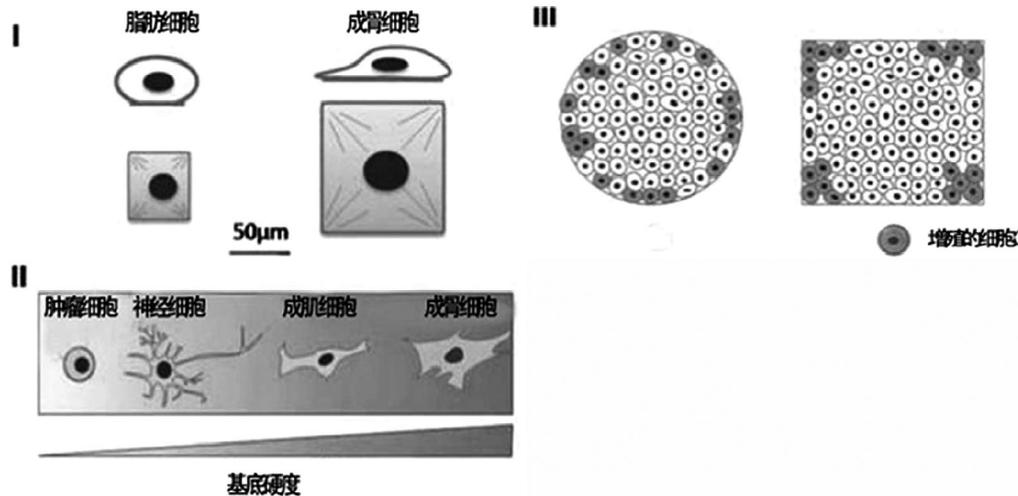


图2 生物力学信号对干细胞分化和增殖的调节作用^[17,20,21]

的地方, 即圆形培养皿的边缘和方形培养皿的四个角落细胞增殖速度最快(图 2-III)。

3 机械力应答过程中细胞在分子水平和基因水平的变化

3.1 细胞柔软性决定其对力的应答能力

胚胎干细胞应答机械力的生物物理机制与其自身的材料性能密切相关, 即细胞的柔软性是其应答应力的关键。细胞的柔软性与硬度是相反的概念, 柔软性越高则硬度越低, 二者都会随着细胞形态和细胞骨架组分的改变而改变。细胞的柔软性体现其内在特性, 控制着细胞在生理环境和体外培养环境中对各种力的响应情况。在多细胞生物中, 细胞的柔软性与细胞类型和细胞分化程度密切相关, 如未受精卵子的硬度约为 10 Pa, 胚胎干细胞的硬度约为 500 Pa, 大脑神经细胞的硬度约为 100 ~ 500 Pa, 肌肉细胞的硬度约为 1 ~ 5 kPa, 这说明细胞的生理功能和对力的敏感性是一致的。早期胚胎细胞在分裂和分化过程中硬度变大以保护机体免受机械力损伤, 这在进化上是有优势的。

3.2 F-肌动蛋白是细胞柔软性的主要影响因素

肌动蛋白是真核细胞中最丰富的蛋白质之一, 是细胞骨架的关键组分, 以单体和多聚体两种形式存在; F-肌动蛋白是由肌动蛋白多聚体形成的双股螺旋状肌动蛋白丝, 其直径为 8 nm。随着肌动蛋白聚合作用和交联作用的变化, 细胞骨架结构也发生变化, 进而非线性地调节细胞柔软性, 所以 F-肌动蛋白对维持细胞形态、细胞运动、分裂分化、细胞内物质运输等功能具有重要作用^[22]。

细胞在运动、吞噬和分裂等正常生命活动中会产生拉伸力或收缩力, 细胞质的边缘是决定细胞力学特性的主要部位, 其主要成分是 F-肌动蛋白, F-肌动蛋白是通过肌动蛋白结合蛋白的交联作用而形成各向同性的网络结构或平行的束状结构。肌动蛋白聚合作用控制细胞突出和扩展过程, 通过细胞骨架染色发现, 细胞在应力诱导下形状的改变与细胞骨架结构的改变相一致(图 3)。Chowdhury 等^[11]发现在相同基底上, 小鼠胚胎干细胞(mES)的柔软性比由其分化的组织细胞(ESD)高 7 倍, 通过相差显微镜观察和罗丹明-鬼笔环肽染色发现, mES 细胞和 ESD 细胞的柔软性与它们的 F-肌动蛋白密度呈负相关, 说明 F-肌动蛋白是决定细胞柔软度的重要因素。在机械力诱导干细胞增殖、分化和变形过程

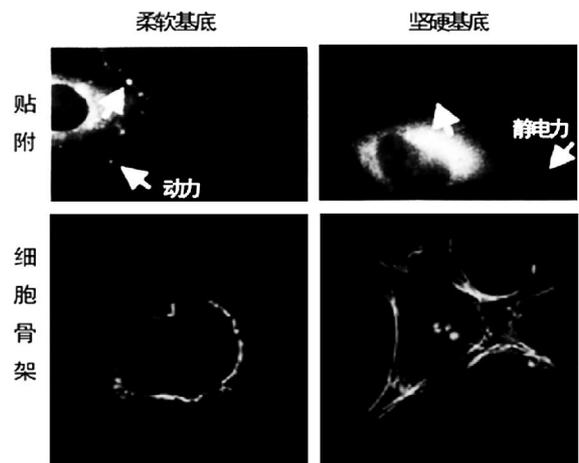


图3 机械力诱导细胞形态改变与细胞骨架之间的关系^[18]

中, F-肌动蛋白发挥重要作用, Altman 等^[23]将间充质干细胞分别培养在三维蚕丝蛋白-壳聚糖组织工程支架和二维玻片上, 研究结果表明前者间充质干细胞中的 F-肌动蛋白的含量比后者高 43%。Titushkin 和 Cho^[24]研究表明, 人类间充质干细胞和由其分化的成骨细胞的杨氏模量分别为 (3.2 ± 1.4) kPa 和 (1.7 ± 1.0) kPa, 膜系长度分别是 (10.6 ± 1.1) μm 和 (4.0 ± 1.1) μm , 这种细胞柔软性和膜力学上的差异主要是两种细胞的肌动蛋白骨架结构不同造成的, 在干细胞发育为成骨细胞的 10 天中不断发生肌动蛋白的重组, 从而导致细胞柔软性的改变。

最近有人提出, 约二十亿年前, 营养丰富的柔软海洋沉积物为最早期的真核细胞进化提供了有利的压力环境^[25]; 这种柔软的糊状微环境与细胞的柔软性相吻合, 从而有利于细胞的蠕动、入侵和迁移, 我们在胚胎干细胞中看到了这种古老进化过程的再现。

3.3 肌球蛋白-II 依赖性的牵引力对细胞应答机械力的重要作用

肌球蛋白是一种超家族分子马达蛋白, 共分为 11 类, 其中 10 类为非传统肌球蛋白, 另 1 类肌球蛋白称为传统肌球蛋白。肌球蛋白 II 的相对分子质量约 460 k, 由两条重链和四条轻链组成, 其主要功能是通过轻链的磷酸化与去磷酸化为血管、肌肉等收缩提供动力。许多细胞正常的生命活动, 如细胞黏附到细胞外基质、细胞收缩产生收缩力等都涉及到细胞骨架结构的改变, 这种力学过程中涉及的主要蛋白是非肌肉型肌球蛋白-II(NMM-II), 在 NMM-II 的三种亚型中, NMM-IIA 和 NMM-IIB 在高等生物中最常见, NMM-IIA 是非肌肉细胞产生力的主要蛋白, 在介导肌球蛋白滑行和细胞铺展方面有重要作用, 基因敲除 NMM-IIA 和 NMM-IIB 会致使小鼠在发育早期死亡^[26]。

Chowdhury 等^[11]在研究 mES 细胞发生应力诱导铺展的生化机制时发现, 在施加应力 30 s 后, 细胞边缘肌球蛋白轻链磷酸化程度增加 40%, 细胞边缘牵引力增加 50%, 而用肌球蛋白 ATP 酶抑制剂或肌球蛋白轻链蛋白激酶抑制因子 ML-7 处理的 mES 细胞完全没有发生应力诱导的铺展, 这表明在 mES 细胞中, 依赖于肌球蛋白-II 的牵引力的产生对应力诱导的铺展至关重要。Pouille 等^[27]发现在果蝇原肠胚形成过程中, 腹部顶层细胞会发生两次收缩从而导致中胚层入鞘, 第一次收缩反应是由转录因子

Snail 控制中胚层任意位置 40% 的细胞随机收缩的过程, 随后其余 60% 的细胞在转录因子 Twist 的控制下发生收缩, 在整个中胚层入鞘过程中需要肌球蛋白-II 重新分布并转移到收缩细胞的顶部, 但在 Snail 纯合子突变果蝇中, 肌球蛋白-II 的重新分布和中胚层入鞘过程发生异常, 在用显微操作针对中胚层施加机械力刺激后, 收缩反应恢复正常, 这充分证明机械力在胚胎发育过程中发挥重要作用, 正常胚胎体内发育所需的机械力刺激是由肌球蛋白-II 收缩或重排产生的。

3.4 Cdc42 和 Rho 在细胞应答机械力中的作用

Rho 蛋白家族包含 Cdc42、Rho、Rac 三个亚家族共十多种, 这些小分子量 G 蛋白具有 GTP 酶活性, 在细胞信号转导、细胞骨架调节、细胞运动和增殖、恶性肿瘤细胞浸润和转移等方面发挥着重要作用。在不同分化程度的细胞中, Rho 蛋白家族的各个成员作用不同, Cdc42 和 Rho 在胚胎干细胞应答外力过程中有重要作用^[28], 而 Rac 则主要介导分化细胞应答外力的过程^[29]。以胰岛素、缓激肽等作为诱导剂激活细胞的 Rac1、Cdc42 信号转导通路后, 分别导致了细胞板状伪足和丝状伪足的产生, 细胞一旦贴附到细胞外基质, 便通过丝状伪足和板状伪足的延伸而迅速铺展^[28]。RNA 干扰技术将 Cdc42 基因敲除后, 应力诱导的 mES 细胞铺展作用随之消失^[11], 充分证明了 Cdc42 在胚胎干细胞应答应力过程中发挥重要作用。活性 Rho 可激活 Rho 激酶(ROCK), Rho 激酶磷酸化肌球蛋白轻链结合亚基, 提高了肌球蛋白轻链磷酸化水平, 促进肌动蛋白-肌球蛋白收缩, 从而导致细胞骨架的重组。Kim 等^[30]证明基底硬度不仅在调节细胞铺展和分化方面发挥重要作用, 而且影响细胞早期信号转导, 将人间充质干细胞培养在坚硬基底上时, 用荧光能量共振转移的方法能检测到细胞质和内质网中自发的 Ca^{2+} 振动; 当基底硬度降低到 1 kPa 时, 振动幅度和频率都大大降低。进一步研究证明, 间充质干细胞中 RhoA 活性也相应降低, RhoA 及其下游分子 ROCK 在基底硬度调节 Ca^{2+} 信号转导中发挥重要作用, 并决定人间充质干细胞的功能。

3.5 Src 在细胞应答机械力中的作用

Src 蛋白是由原癌基因 c-src 编码的一个相对分子质量为 60 k 的酪氨酸家族蛋白激酶(SFK), 在调控细胞骨架结构、胞间黏连, 调节细胞的生长、发育、增殖和凋亡等方面发挥着重要作用。SFK 对于

小鼠或人的胚胎干细胞保持未分化状态至关重要,在小鼠或人类胚胎干细胞中大量表达 Src 家族的 cYes,选择性的抑制 Src 家族激酶能降低 Oct3/4、碱性磷酸酶、成纤维生长因子等未分化状态标记基因的表达^[31]。

Src在机械刺激转化为生物化学信号过程中发挥重要作用^[32],机械力可以激活 MAP 激酶、酪氨酸激酶/磷酸酶等多种信号通路^[33]。Cas 是 SFK 的一个底物,参与细胞迁移、变形和入侵等^[34],机械力可以激活 SFK 进而使 Cas 酪氨酸磷酸化,并导致细胞功能的改变。Giannone 等^[35]的研究表明,酪氨酸激酶/磷酸酶信号通路是细胞感知应力的重要途径,应力作用于整合蛋白进而诱导 SFK 磷酸化^[36],Src 蛋白激活后,其 SH3 和(或)SH2 结构域与肌动蛋白纤维结合,并在激酶域的催化下拆卸肌动蛋白束,瓦解细胞黏连,进而快速激活信号通路的下游信号。用 Src 酪氨酸磷酸化特异性抑制剂 PP1 处理细胞能阻断细胞应力应答过程^[35],酪氨酸激酶/磷酸酶的突变也能引起细胞的形态学特征的改变。

4 力学转导的分子机制

机械感知、机械传导和机械应答是多细胞动物的重要特征,对细胞表面施加的物理作用或机械作用可以通过某种机制转变成细胞内流变学和生物化学变化,如在剪切力的作用下黏着斑蛋白、踝蛋白^[37]和红细胞血影蛋白^[38]发生解折叠;机械力作用下内皮细胞中整合蛋白被激活^[36]。在通常情况下,任何一个蛋白的结构改变都会引起细胞骨架网络中其他成分的改变,因为细胞要通过细胞骨架的变形来平衡这个蛋白质的变形,力的平衡过程也就是细胞的力学转导过程。对于贴附在培养基底上的细胞来说,一部分细胞收缩力被传输到基底上从而引起基底的褶皱或变形,同时这些细胞也能感受到基底反馈的阻力,并通过调节细胞骨架结构等来应答基底的阻力。细胞应答外力的过程是细胞与外部微环境相互作用的循环反馈过程。

细胞力学转导的研究内容主要有两部分:一是细胞外机械力信号如何转化成细胞表面的化学信号^[39];二是细胞表面受体(如整合蛋白、钙黏着蛋白等)如何将化学信号集中传递到细胞质和细胞核。Wang 等^[40]对细胞表面施加机械力后,整合蛋白的细胞外结构域作为力的受体发生构象改变,进而诱导黏着斑蛋白和其他相关蛋白变形。黏着斑是细胞表面整

合蛋白受体和胞内肌动蛋白骨架的连接桥梁,黏着斑的激活诱导细胞骨架结构的改变。机械应答通路中产生的生物化学信号调节细胞形态、结构、功能,以及生长、分化和死亡等一系列变化。

5 结语

机械力作为影响干细胞形态、结构、功能和分化的主要因素之一,其重要性受到人们的广泛关注,通过对胚胎干细胞应答机械力的生化、物理机制的研究,逐步阐明了细胞骨架结构介导的信号转导通路。由于胚胎干细胞在医疗领域的重要应用价值,机械力诱导胚胎干细胞定向分化这一课题具有重大的经济和研究价值,对细胞动态培养和定向分化、疾病发生机理和治疗策略、病变组织的移植和再生等均会有重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] Kaiser J. Stem cells. CIRM awards seek to move cell therapies to the clinic. *Science*, 2009, 326(5954): 780-1
- [2] Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science*, 2009, 326(5954): 818-23
- [3] Smits AM, van den Hengel LG, van den Brink S, et al. A new *in vitro* model for stem cell differentiation and interaction. *Stem Cell Res*, 2009, 2(2): 108-12
- [4] Yamauchi K, Hasegawa K, Chuma S, et al. *In vitro* germ cell differentiation from cynomolgus monkey embryonic stem cells. *PLoS One*, 2009, 4(4): e5338
- [5] Khan WS, Malik AA, Hardingham TE. Stem cell applications and tissue engineering approaches in surgical practice. *J Perioper Pract*, 2009, 19(4): 130-5
- [6] Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet*, 2008, 372(9655): 2023-30
- [7] Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, et al. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med*, 2009, 6(2): e1000029
- [8] Willerth SM, Fixel TE, Gottlieb DI, et al. The effects of soluble growth factors on embryonic stem cell differentiation inside of fibrin scaffolds. *Stem Cells*, 2007, 25(9): 2235-44
- [9] Dodla MC, Mumaw J, Stice SL. Role of astrocytes, soluble factors, cells adhesion molecules and neurotrophins in functional synapse formation: implications for human embryonic stem cell derived neurons. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2010, 5(3): 251-60
- [10] Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW. Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science*, 2009, 324(5935): 1673-7
- [11] Chowdhury F, Na S, Li D, et al. Material properties of the

- cell dictate stress-induced spreading and differentiation in embryonic stem cells. *Nat Mater*, 2010, 9(1): 82-8
- [12] Kurpinski K, Chu J, Hashi C, et al. Anisotropic mechanosensing by mesenchymal stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(44): 16095-100
- [13] Adamo L, Naveiras O, Wenzel PL, et al. Biomechanical forces promote embryonic haematopoiesis. *Nature*, 2009, 459(7250): 1131-5
- [14] Belousov LV, Ermakov AS. Artificially applied tensions normalize development of relaxed *Xenopus laevis* embryos. *Ontogenez*, 2001, 32(4): 288-94
- [15] Lang T, LeBlanc A, Evans H, et al. Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(6): 1006-12
- [16] Evans ND, Minelli C, Gentleman E, et al. Substrate stiffness affects early differentiation events in embryonic stem cells. *Eur Cell Mater*, 2009, 18: 1-14
- [17] McBeath R, Pirone DM, Nelson CM, et al. Cell shape, cytoskeletal tension, and rhoa regulate stem cell lineage commitment. *Dev Cell*, 2004, 6(4): 483-95
- [18] Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science*, 2005, 310(5751): 1139-43
- [19] Engler AJ, Carag-Krieger C, Johnson CP, et al. Embryonic cardiomyocytes beat best on a matrix with heart-like elasticity: scar-like rigidity inhibits beating. *J Cell Sci*, 2008, 121(22): 3794-802
- [20] Nelson CM, Bissell MJ. Modeling dynamic reciprocity: engineering three-dimensional culture models of breast architecture, function, and neoplastic transformation. *Semin Cancer Biol*, 2005, 15(5): 342-52
- [21] Freytes DO, Wan LQ, Vunjak-Novakovic G. Geometry and force control of cell function. *J Cell Biochem*, 2009, 108(5): 1047-58
- [22] Staruschenko A, Negulyaev YA, Morachevskaya EA. Actin cytoskeleton disassembly affects conductive properties of stretch-activated cation channels in leukaemia cells. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1669(1): 53-60
- [23] Altman AM, Gupta V, Rios CN, et al. Adhesion, migration and mechanics of human adipose-tissue-derived stem cells on silk fibroin-chitosan matrix. *Acta Biomater*, 2010, 6(4): 1388-97
- [24] Titushkin I, Cho M. Modulation of cellular mechanics during osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Biophys J*, 2007, 93(10): 3693-702
- [25] Krishnan R, Park CY, Lin YC, et al. Reinforcement versus fluidization in cytoskeletal mechanoresponsiveness. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5486
- [26] Chen CS. Separate but not equal: differential mechanical roles for Myosin isoforms. *Biophys J*, 2007, 92(9): 2984-5
- [27] Pouille PA, Ahmadi P, Brunet AC, et al. Mechanical signals trigger Myosin-II redistribution and mesoderm invagination in *Drosophila* embryos. *Sci Signal*, 2009, 2(66): ra16
- [28] Price LS, Leng J, Schwartz MA, et al. Activation of rac and cdc42 by integrins mediates cell spreading. *Mol Biol Cell*, 1998, 9(7): 1863-71
- [29] D' Souza-Schorey C, Boettner B, Aelst LV. Rac regulates integrin-mediated spreading and increased adhesion of T lymphocytes. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(7): 3936-46
- [30] Kim TJ, Seong J, Ouyang M, et al. Substrate rigidity regulates Ca^{2+} oscillation via rhoa pathway in stem cells. *J Cell Physiol*, 2009, 218(2): 285-93
- [31] Anneren C, Cowan CA, Melton DA. The Src family of tyrosine kinases is important for embryonic stem cell self-renewal. *J Biol Chem*, 2004, 279(30): 31590-8
- [32] Wang Y, Botvinick EL, Zhao Y, et al. Visualizing the mechanical activation of Src. *Nature*, 2005, 434(7036): 1040-5
- [33] Geiger B, Bershadsky A. Exploring the neighborhood: adhesion-coupled cell mechanosensors. *Cell*, 2002, 110(2): 139-42
- [34] Defilippi P, Di Stefano P, Cabodi S. P130Cas: a versatile scaffold in signaling networks. *Trends Cell Biol*, 2006, 16(5): 257-63
- [35] Giannone G, Sheetz MP. Substrate rigidity and force define form through tyrosine phosphatase and kinase pathways. *Trends Cell Biol*, 2006, 16(4): 213-23
- [36] Friedland JC, Lee MH, Boettiger D. Mechanically activated integrin switch controls alpha5beta1 function. *Science*, 2009, 323(5914): 588-9
- [37] del Rio A, Perez-Jimenez R, Liu R, et al. Stretching single talin rod molecules activates vinculin binding. *Science*, 2009, 323(5914): 638-41
- [38] Johnson CP, Tang HY, Carag C, et al. Forced unfolding of proteins within cells. *Science*, 2007, 317(5838): 663-6
- [39] Wozniak MA, Chen CS. Mechanotransduction in development: a growing role for contractility. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(1): 34-43
- [40] Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science*, 1993, 260(5111): 1124-7