

110學年度臺中市中小學科學展覽會

作品說明書

科 別：動物與醫學學科

組 別：高級中等學校組

作品名稱：**利用微米多孔陣列操控癌細胞大小及形狀並用於
抗癌藥物測試**

關 鍵 詞：癌症藥物測試、細胞活動分析、微米陣列

編 號：

目錄

| | |
|-----------------|----|
| 壹、研究動機 | 2 |
| 貳、研究目的 | 3 |
| 參、研究設備及器材 | 3 |
| 肆、研究過程或方法 | 5 |
| 伍、研究結果 | 9 |
| 陸、討論 | 14 |
| 柒、未來展望 | 17 |
| 捌、結論..... | 17 |
| 玖、參考文獻資料 | 17 |

摘要

細胞是所有生物有機體中最基本和最重要的單位，藉由細胞型態和大小來了解細胞的狀態是生物細胞學中重要的研究方向。藉由細胞工程學的微米操控技術將細胞吸附於特定的二維空間，形狀及尺寸將有利於了解細胞對其微環境(Microenvironment) 之間的交互作用，更進一步了解外在刺激物質對細胞的影響，例如藥物，細胞培養基質。本研究首先利用軟硬刷術中普遍使用的微米印刷術將細胞吸附蛋白質以特定的尺寸及形狀轉印在細胞培養盤中，用其誘導細胞吸附在相對應的圖案上。相較於傳統的微米印刷術利用蛋白質誘導細胞吸附，此研究用自行開發的微米穿孔薄膜直接將細胞生長於微米槽之中，此方法是利用物理邊界的限制將細胞生長於特定微米環境之中，其結果顯示利用物理邊界來操控細胞吸附相較蛋白質誘導來得明顯及有效。最後我們利用此方法來研究肺癌細胞對於抗癌藥物的影響。

壹、研究動機

細胞型態的異質性是對於許多細胞療法是否能成功轉化到臨床應用主要的挑戰。過去已有許多生物工程學領域所發展的工具用來協助了解細胞對其微環境之間的相互影響，目的是針對單細胞或多細胞的型態做有效的操控進而簡化細胞型態的異質性，其中包括利用圖案化的細胞外基質(Extracellular Matrix, ECM)來誘導細胞吸附，(Extracellular Matrix, ECM)來誘導細胞吸附[1-5]，可控式親疏水表面[6]。雖然這些方法能成功操控細胞的吸附行為，如需更進一步的臨床應用，其易用性、穩定性和高通量是需要重點被考慮。ECM 微米陣列是較廣泛應用於細胞型態的控制，利用其軟硬刷術的特性，蛋白質可以有效以特定大小及形狀轉印於多數的機材表面[2, 3]。但其最大挑戰是保持蛋白質的穩定性，首先蛋白質在轉印的過程如何保持其均質性[7]，還有在細胞培養的過程中會和蛋白質產生交互作用並將其分解，因此在細胞長時間培養的過程中會造成蛋白質微米塗層產生不穩定

性。因此如何能有效控制細胞異質性且保持其穩定性是目前重要的議題。此研究主要的發想是利用物理限制直接規範細胞所能吸附的空間，用其操控細胞的型態且物理邊界非常穩定，可補足上述蛋白質微米塗層對於實現高通量與穩定性的不足。

貳、研究目的

台灣生醫產業發展快速，尤其是新藥開發和生醫材料發展成果令人振奮。鑑於台灣過去發展半導體產業的經驗，關鍵設備的發展與研發是形成產業鍊的重要環節，因此開發關鍵生醫設備對未來台灣發展生技產業是至關重要。本研究重點是希望利用生醫工程的微米製程技術將細胞有系統的控制其生長大小及形狀，作為藥物篩選系統的前驅應用。本技術的優點在於製程技術簡易成本低，可以穩定控制細胞生長範圍並可相容現有藥物篩選平台長時間測量細胞對藥物的反應。

參、研究設備及器材

一、實驗材料

| 名稱 | 備註 |
|------------------------------------|--------------------------|
| A549 (肺線癌細胞株) | Thermo Fisher Scientific |
| Medium DMEM | Invitrogen |
| Trypsin-EDTA | Thermo Fisher Scientific |
| Phosphate buffered saline | Biomate |
| 0.1% PFA | Santa Cruz |
| 5-fluorouracil | Sigma-Aldrich |
| DAPI | Sigma-Aldrich |
| Alexa Fluor™ 488 Phalloidin | Invitrogen |
| Vybrant Dil Cell-Labeling Solution | Invitrogen |

| | |
|---------------------------|---------------|
| Pluronic® F-127 | Sigma-Aldrich |
| Triton X-100 | BioBasic |
| Bovine Serum Albumin | Gibco |
| Sylgard 矽利光 AB 膠 PDMS 184 | Dow Corning |

二、實驗器材

| | |
|---------------|---------------------------------------|
| 細胞培養箱 | Eppendorf international inc. |
| 生物安全操作台 | Thermo fisher scientific |
| 離心機 | Eppendorf international inc. |
| 離心管 | Thermo fisher scientific |
| Vortex Mixer | Digisystem laboratory instrument inc. |
| Pipette | Eppendorf international inc. |
| 移液器 | DLAB scientific inc. |
| 6-well plate | Simply |
| Patterning 薄膜 | Bemis |
| 培養皿 | Simply |
| 冰塊 | 製冰機 |
| 攝氏-30 度冰箱 | PHC Corporation Singapore |
| 電腦 | ASUS |
| 攝氏 4 度冰箱 | 雙鷹企業有限公司 |
| 光學顯微鏡 | 元利儀器有限公司 |
| 螢光顯微鏡 | 元利儀器有限公司 |
| 氧電漿機 | Harrick plasma inc. |
| 大容量格式化硬碟 | Transcend |
| 氣槍 | 昞暉有限公司 |
| 水浴槽 | Digisystem laboratory instrument inc. |
| 微盤分析儀 | BioTek |

肆、研究過程或方法

一、實驗架構圖





二、研究方法步驟

（一）細胞培養

1. 將 trypsin EDTA、medium 及 PBS 自 4°C 冰箱中取出放水浴槽回溫
2. 啟動除菌箱、開 UV 20 分鐘殺去殘餘細菌
3. 將 trypsin EDTA, Medium 及 PBS 放入其中
4. 將細胞從培養箱中取出，以顯微鏡觀察確認無受到污染後，用 75%酒精消毒培養皿外部，放入除菌箱進行操作

5. 吸去培養液並以 PBS 清洗兩次（除去殘留的 medium 及細胞代謝廢物）
6. 滴加 1~2mL Trypsin-EDTA 後放入 incubator 兩分鐘 使細胞不再貼附於培養皿上轉而懸浮
7. 加入 3mL Medium 中和 Trypsin-EDTA，並將細胞懸浮液吸入至離心管
8. 以 0.6 rcf 離心兩分半鐘後（使細胞沉澱在離心管底部以便分離）再吸去上清液
9. 於離心管加入 3ml Medium 並 pipette 將細胞液混合均勻
10. 取染劑 10 μ l 置於 Eppendorf 的蓋子上
11. 從離心管內的細胞液裡取 10 μ l 置於 Eppendorf 的蓋子上和染劑 pipette 均勻
12. 取出計數盤並先用 99.5%酒精擦拭蓋玻片
13. 從蓋子上各吸取 10 μ l 混合液到計數盤兩側
14. 將計數盤放置顯微鏡下並用計數器輔助計數，計算計數盤四個角落細胞數目總和再將兩側的計算結果平均可得 0.1 μ l 中的活細胞數目
15. 依 10mm dish 建議繼代細胞數目 (2.2×10^6) 從離心管中吸取均勻細胞液至新培養皿再加入足量 medium
16. 在顯微鏡下確認細胞數目及狀態之後放入培養箱中繼續培養

（二）細胞計數

1. 取 10 μ L 均勻細胞懸浮液與 10 μ L Trypan blue 均勻混合
2. 取 10 μ L 滴至（）計數器一邊及剩餘 10 μ L 至另外一邊
3. 放置顯微鏡下計數位於九宮格四角的細胞數目總和
4. 將兩邊觀測結果取平均後以下列公式計算每 1mL 所含的細胞數目：觀測平均 $\times 2 \times 10000/4$

（三）印章製作

1. 將樹脂與固著劑以 10：1 混合均勻

2. 以幫浦將氣泡吸除後倒入 cell patterning well 模型矽晶盤
3. 待固著（用烤箱以 80 度烘烤一小時）後切下所需大小
4. 將切下之樹脂放入氧電漿機後將空氣抽至 20 torr 後開始通電（RF level 開至最高）半分鐘
5. 將處理好之樹脂 well printing 那一面滴上 ECM 靜放 15 分鐘等待附著後用 PBS 清洗三次
6. 將附著面朝下置入適合培養皿以 10g 砝碼壓 15 分鐘
7. 在培養皿滴入一層能覆蓋培養皿底部的 F-127，等待 15 分鐘
8. 以 pbs 清洗並滅菌後可以開始植入細胞

（四）孔盤製作

1. 將樹脂做成薄膜後以雷射切割出孔狀構造
2. 將薄膜覆貼於培養皿中後，加入 F-127 直到覆蓋薄膜
3. 十五分鐘後以 pbs 清洗後以 PBS 保存放入操作台滅菌
4. 透過 pipetting 將大部分孔內氣泡沖出並放入培養箱中放置等剩餘氣泡消失
5. 將 PBS 置換成 Medium（過程中避免液面低過薄膜）後，即可培養細胞

（五）細胞固定

1. 吸走 medium 並以 PBS 清洗細胞 3 次
2. 加入 3.7% PFA 固定細胞 10 到 15 分鐘後用 PBS 洗 3 次
3. 加入 PBS 保存

（六）螢光染色

1. 加入 0.1% Triton x-100 in PBS 15 分鐘後以 PBS 清洗 3 次

2. 加入 0.1% BSA，30 到 40 分鐘後以 PBS 清洗 3 次
3. 依需要進行以下處理：
 - i. 加入 DAPI 染 10~15 分鐘（染劑與 PBS 比例 1:999）
 - ii. 加入 Fluorescent Dye (488nm) 染 30 到 40 分鐘（染劑與 PBS 比例 1:499）

（七）細胞膜染色

1. 將細胞懸浮液加入離心管以離心 0.6 rcf 離心兩分半鐘
2. 加入（染細胞膜染劑）30 到 40 分鐘。（染劑與 PBS 比例 1:200）

（八）ELISA

1. 將細胞轉移至多孔盤
2. 將藥物序列稀釋，加入多孔盤中，並於一旁紀錄濃度順序
3. 將 cck-8 各加 50 μ L 至各個孔中
4. 設定吸光值 450nm 並將多孔盤放入
5. 測定數據

伍、研究結果

一、微米印刷術

利用黃光顯影技術先將所需的微米尺寸圖案在矽基板上製作成母模（圖四 a&b），利用 PDMS 翻印母模（圖四 b）後製成微米印章，將氧電漿處理後的微米印章塗覆螢光混合的 FN(Alexa 488)後靜置 15 分鐘，用氮氣槍吹乾多餘的蛋白質後小心放置於培養皿並加上 5 克法瑪 15 分鐘，分離微米圖章與培養皿後加入 1%F-127 靜置 15 分鐘，F-127 僅會與 FN 之外的區域附著且細胞無法附著至其表面。（圖四 c）為螢光顯

微鏡下微米蛋白圖章轉印的結果，不同圖案及大小的 FN 蛋白質可以被成功轉印在細胞培養皿表面。

二、細胞培養在微米蛋白質陣列表面

非小肺癌細胞(non-small lung cancer) A549 以細胞數 100000 的條件下培養在微米蛋白質陣列中持續 24 小時，之後細胞用 4%福馬林浸泡 15 分鐘將其固定。固定的細胞用不同螢光染劑進行染色，分別為肌動蛋白(actin filament, Alexa Fluor™ 488 Phalloidin)和細胞核(nucleus, DAPI)。染色後的細胞用螢光顯微鏡進行觀測，其結果顯示大部分細胞會附著在微米蛋白質陣列上，但有部分細胞也會附著在微米蛋白質陣列外(圖五)，詳細原因請見討論部分。

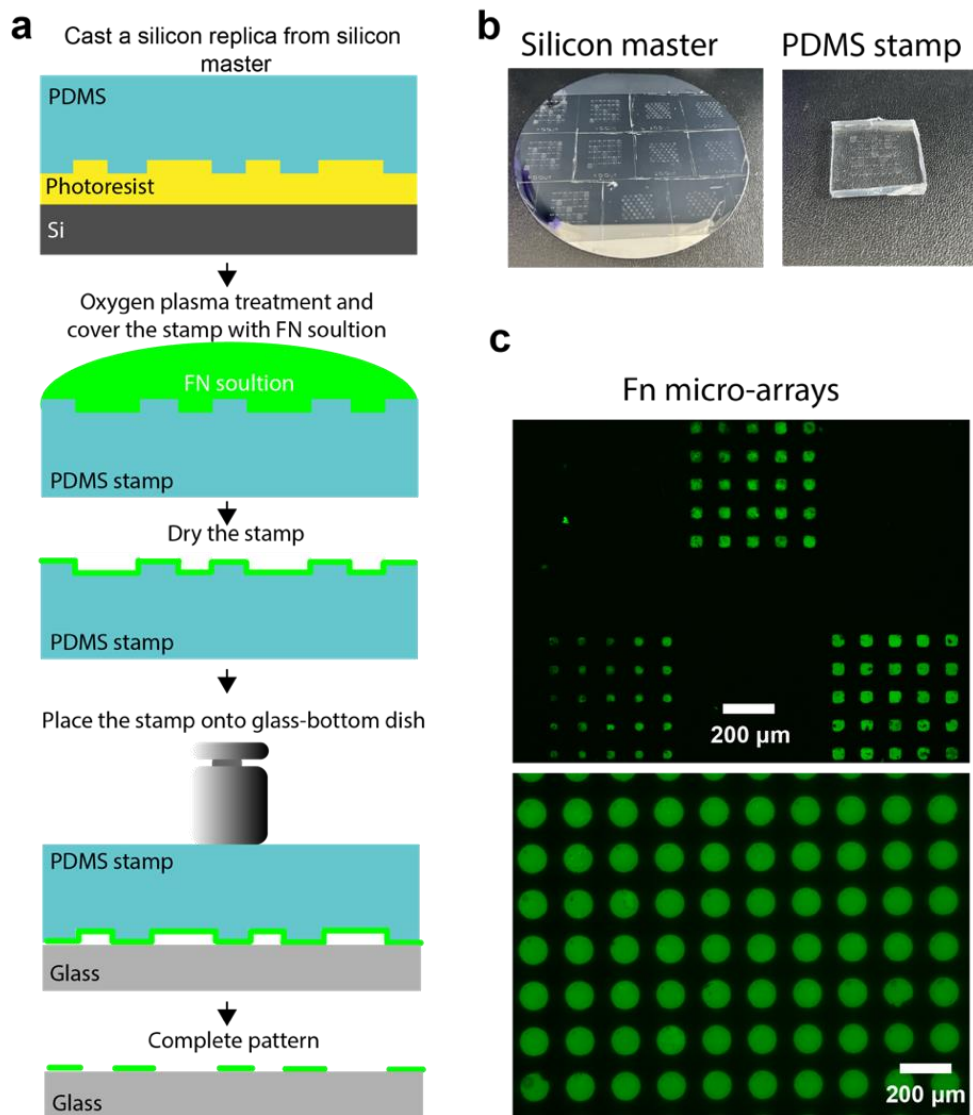
三、細胞培養在微米多孔表面

我們利用聚二甲基矽氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)(Sylgard 184)矽橡膠和固化劑已 10:1 的比例混合，接著塗覆在塑膠培養皿上，經過加熱固化(80 度 1 小時)PDMS 薄膜會固化在塑膠盤上。我們將薄膜樣品利用雷射雕刻機將薄膜以直徑 60 微米大小打孔成多孔陣列，打完孔後的薄膜用鑷子小心將其與塑膠盤分離並浸泡於 1%F-127 中 15 分鐘後用氮氣將其吹乾，接著將 PDMS 薄膜放置於細胞培養盤中並加入細胞進行培養(圖六 a&b)，24 小時過後將細胞固定並染色，顯微鏡結果顯示大部分的細胞都僅附著在微米孔洞內(圖六 c)。

四、癌細胞在微米孔洞中的抗癌藥物測試

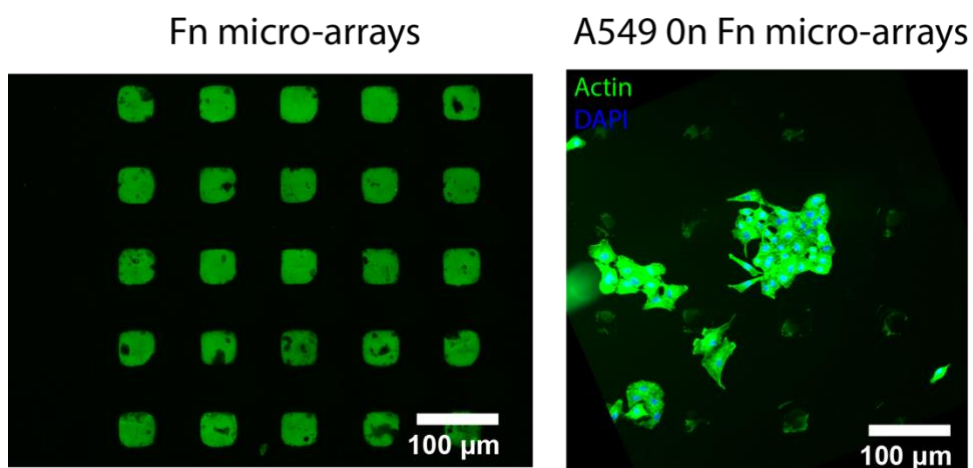
此實驗我們利用 Fluorouracil (5-FU)抗癌藥物測試 A549 細胞對其產生的影響，首先我們用 CCK8 kit 與 Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)測試不同濃度 5-FU 對 A549 的毒性，其結果顯示加藥後濃度在 200 μ M時間 24 小時後細胞存活率接近 50%(IC50)(圖七 a)，因此我們用此條件來測試細胞在微米多孔盤中的反應。做為對照

我們將細胞分別培養在微米多空盤與一般培養盤上，以相同條件比較加藥與不加藥的差異，細胞先以相同數量培養 24 小時後加入 200 μ M 5-FU 後再接著培養 24 小時，之後將細胞固定和染色(Alexa Fluor™ 488 Phalloidin, DAPI)(圖七 b&c)。我們將顯微鏡拍照的圖相利用 ImageJ 的軟體來做分析，這裡我們使用 Orientation 的 Plugins 來分析肌動蛋白纖維的方向性 (Orientation)，其結果顯示當細胞在一般的培養盤條件下，加藥與不加藥纖維的方向性較無明顯區別 (圖七 d)，當細胞培養在微米多孔薄膜中，不加藥細胞的肌動蛋白纖維比加藥條件下來的明顯且具有方向性。

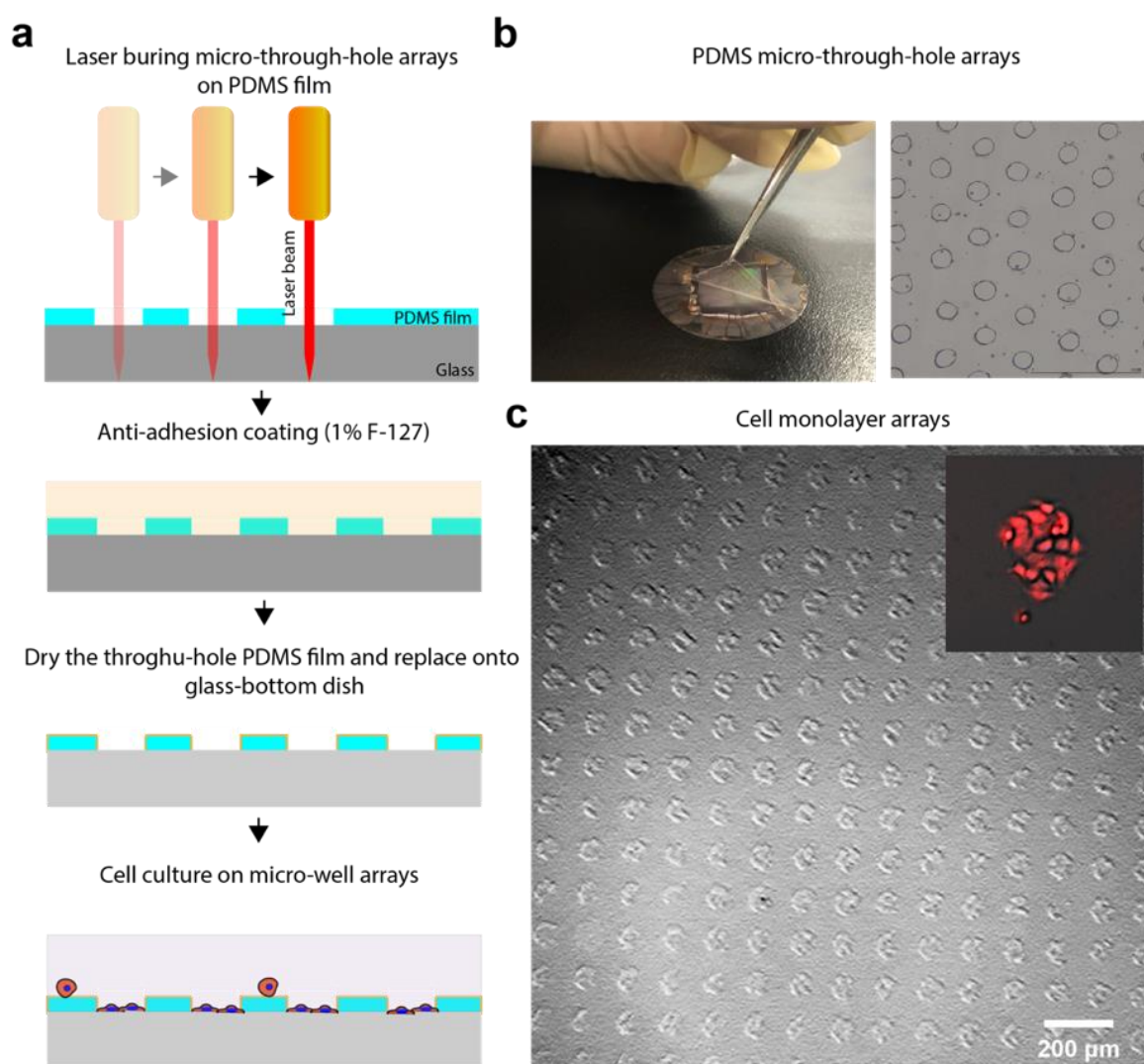


圖（四）、微米印章的原理及外觀

a. 實驗流程圖，b. 母模(左)、PDMS 印章, c. 螢光顯微鏡下 FN 蛋白微米圖案

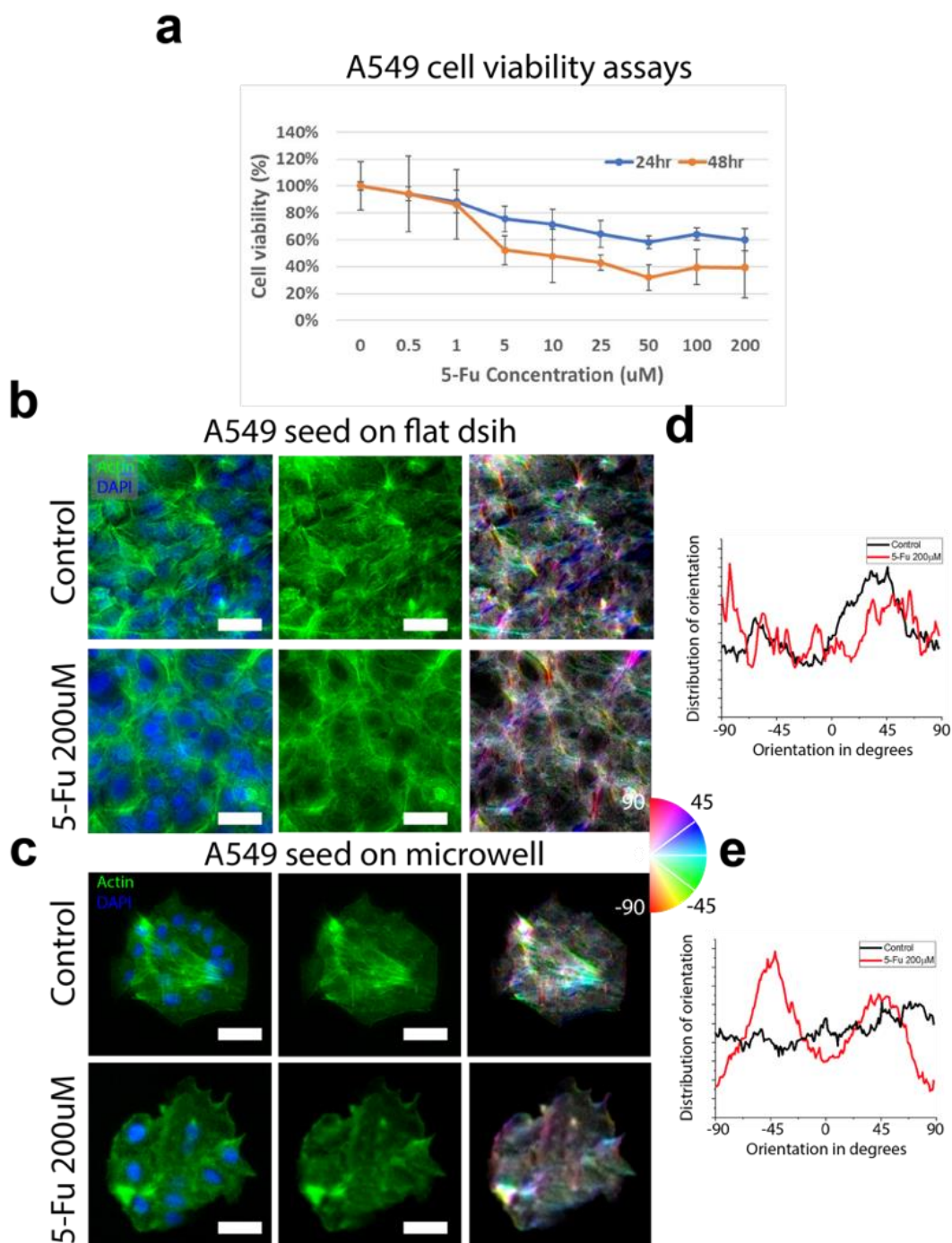


圖（五）螢光顯微鏡下 FN 微米印章(左)與細胞附(右)著情形



圖（六）、微米多孔陣列的原理及外觀

a. 實驗流程圖, b. PDMS 微米多孔薄膜, c. 細胞吸附於微米多孔薄膜中



圖（七）、以 Microwell 和 Flat dish 觀察 5-FU 對細胞影響

a. CCK8 活性測試 A549 在不同濃度 5-FU 下的反應, b&d. A549 在正常培養皿下對藥物的反應(5-FU), 肌動蛋白纖維方向性分析, c&e. A549 在微米多孔薄膜下對藥物的反應(5-FU), 肌動蛋白纖維方向性分析, Scale bar 20 μ m

陸、討論

一、實驗討論

細胞作為生物有機體中最基本的單位，任何外在物質對其的影響與細胞的反饋都是最初始且直接，因此觀測細胞行為對不同藥物的影響是新藥開發的重要環節。又如細胞療法，幹細胞再生和近期的免疫細胞療法都必需要清楚了解細胞的狀態後方能應用於臨床實驗。有鑒於細胞生長機制複雜，即使同一種細胞其生長的大小，形狀都有很大的不同，過去有許多研究利用表面工程技術來規範細胞吸附的大小和形狀進一步簡化細胞的異質性，進而提升細胞狀態辨識的準確性。

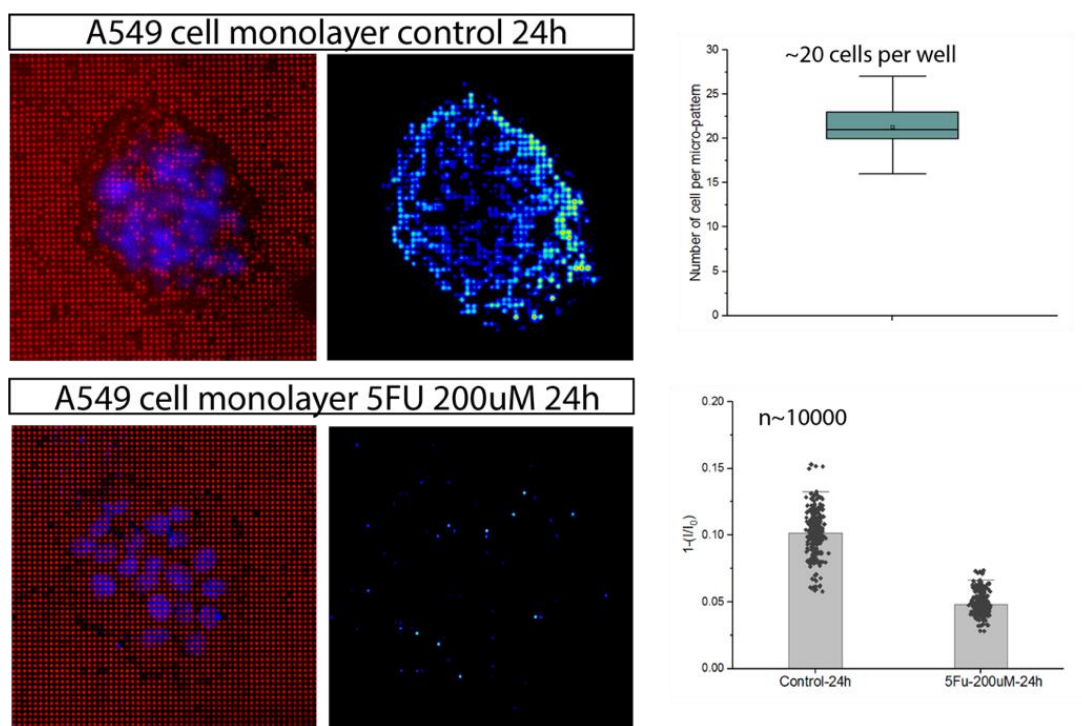
首先我們使用過去較常使用的細胞操控技術“微米接觸應刷”，藉由具有微米圖案的軟性圖章將幫助細胞吸附的蛋白質轉印於基材表面形成特定形狀，大小的蛋白質圖案並將抗細胞吸附分子吸附於蛋白質圖案外，當細胞培養於此基材表面時，細胞原則上會以蛋白質圖案相同的形狀和大小附著於機材表面，由我們實驗結果發現，微米蛋白質圖案可以成功轉印於機材表面，但附細胞覆著蛋白質圖案陣列後，有部分細胞會吸附在微米蛋白質圖案之外，我們推測原因因為抗吸附層分子沒有穩定吸附在微米蛋白質圖案之外，特別是細胞在長時間生長後，細胞會與蛋白質產生交互作用並吸收部分的蛋白質。

為了可以達成細胞能以穩定特定尺寸吸附在機材表面，我們希望利用物理邊界來限制細胞生長的形狀與大小，結果也成功驗證細胞能穩定且長時間被控制在微米多孔薄膜中，此方法對於控制單細胞較具有挑戰，首先雷射雕刻機能形成最小的微米孔徑為 60 微米，細胞大小約略 10 微米，經常發生會有多個細胞聚集在單一孔洞之中，即使降低細胞濃度後能成功控制單細胞在單個微孔中的機率約 20-30%，因此我們先將細胞數調整到可以覆蓋至整個微米多孔陣列，先讓細胞覆著 3-6 小時，由於薄膜表層有吸附抗吸附層，在孔洞外的細胞可以很容易被沖開並用微量滴管抽掉，細胞僅在孔洞內穩定生長，經過統計平均有 20 個細胞附著在每一個微米孔洞中。

要了解細胞在微米孔洞中的生長狀態，我們利用螢光染色標的細胞的肌動蛋白纖維，肌動蛋白是細胞用來控制細胞型態並與其微環境產生力學相關的交互作用[8]，觀測其纖維結構的表現，如數量，方向可了解細胞的吸附狀態。此研究利用肺癌細胞來測試微米孔洞系統，肺細胞的機械力學對細胞能否正常生長有很重要的影響，不正

常的力學表現會導致肺纖維化進而導致癌化的風險。Fluorouracil (5-FU)是一般普遍使用的抗腫瘤藥物，主要用來抗代謝物會阻止癌細胞正常工作，會阻止細胞製造和修復DNA，我們比較細胞在一般培養盤和微米孔盤下受 5-FU 藥物的影響，當細胞在一般培養盤生長受 5-FU 影響後，其肌動蛋白纖維與不加藥的條件比較有些許分佈上的不同，經由肌動蛋白纖維方向性分析區別較不顯著，

當細胞附著在微米孔洞中，相同的測試條件可以顯著發現肌動蛋白纖維在加藥後其纖維較隨雜排列不具方向性，相較不加藥條件，其肌動蛋白纖維明顯且朝特定方向延伸。由此可推論，當數個細胞吸附在有限的範圍裡形成 60 微米大小的單層聚落 (micro-monolayer)其對藥物的影響較為明顯，換句話說，利用微孔陣列作為細胞藥物測試基材可以有效提升其靈敏度，相同微孔以陣列的方式排列可達到每平方公分 1000 個微孔，進而實現高通量細胞藥物篩選。由於細胞體內的激動蛋白纖維會直接影響細胞的機械力學，我們將微米多孔薄膜整合到徐教授實驗室發展的細胞力學量測系統 [9,10]，其結果顯示，在微孔中 A549 細胞牽引力(traction force)有顯著下降當細胞接觸 5-FU 24 小時後 (圖八)。



圖（八）、細胞力學晶片分析

二、實驗注意事項

在這次的研究，我們學會了實驗的設計，方法以及發現問題與如何解決問題的能力，以下列表為我們總結會影響實驗結果而需注意的事項：

1. 進行細胞計數時，可以利用 99.5%酒精擦拭計數盤之蓋玻片，使細胞懸浮液滴加後之細胞能在計數盤上均勻分布。
2. 模型製作完畢後，需在培養細胞前以操作櫃之滅菌紫外燈滅菌，避免細胞受黴菌污染。
3. 配置最適濃度之染劑時須大量配置，以降低使用微量吸管時之儀器誤差導致最後濃度之誤差過大，並在混和過程中使用試管震盪器使均勻混和。
4. 實驗進行中，應避免操作櫃內微量吸管及移液器等碰觸試管壁或檯面等，以免造成試劑及培養之細胞有受污染之情形。
5. 進行須於操作櫃進行之實驗時，應先消毒手部及前臂等可能進入操作櫃內之身體部位，避免無意間造成細菌及黴菌之污染。
6. 以現行既有印章模型而言，長時間的放置會使複印上去的胞外基質因未知原因導致培養細胞時誘導細胞生長之效果較弱，而導致細胞無法完全附生於指定定位點上，所以模型製作完成後應在短時間內進行後續實驗。
7. 將細胞進行繼代前須確認細胞數是否過少，避免產生細胞量不夠導致繼代後之細胞有無法生長之情況。
8. 需低溫保存的藥品及試劑在未使用時須將其保存於冰塊中，盡量避免將其置於室溫過久破壞其化合物之活性。
9. 處理細胞照片時應避免產生無法選取之死角，否則其將影響最後數據之準確性。
10. 使用氣槍及氧電漿機時應避免產生過大氣壓差導致樣品有被吹翻之情況，以免模型品質過低之虞。
11. 進行去除孔狀薄膜模型中小氣泡時，應避免過程中液面低於薄膜之情況，導致孔中再次出現小氣泡。

柒、未來展望

此系統製作容易且生產成本低，未來我們希望可以繼續測試此系統的可能性，例如改變孔洞的大小，形狀並測試不同種類細胞，同時觀測細胞的功能如細胞機械力，細胞遷移在藥物刺激下的行為，更進一步我們希望可以將此系統整合到不同的藥物檢測平台。

捌、結論

單細胞和多細胞形態特徵是整個細胞內部訊號傳遞和功能表現的總和，近期先進影像技術的進步結合細胞工程學工具的發展推動了基於形態學的研究。由於形態學和細胞功能之間建立了良好的關係，形態學分析已越來越多的用於了解功能異質性及其對治療發展的影響。在這個研究裏我們首先使用過去發展的微米印刷術來控制細胞型態，微米印刷能有效且精準將體外基質以不同形狀與大小轉印於基材表面，但在細胞與其交互中如何保持蛋白質的穩定性相對不容易達成，我們使用自行製備的 PDMS 微米孔洞薄膜，成功的長時間且穩定控制細胞生長範圍，藥物測試結果也指出當有效控制細胞生長環境能有效提升藥物測試的靈敏度，利用週期性陣列的微米孔洞操控細胞可顯著的降低細胞型態異質性，提升藥物測試靈敏度且可高通量提取細胞信息提供統計分析的準確性。

玖、參考文獻資料

1. Moeller J, Denisin AK, Sim JY, Wilson RE, Ribeiro AJS, Pruitt BL. Controlling cell shape on hydrogels using lift-off protein patterning. PLoS One. 2018;13(1):e0189901. Epub 2018/01/04. doi: 10.1371/journal.pone.0189901. PubMed PMID: 29298336; PubMed Central PMCID: PMC5752030.

2. Alom Ruiz S, Chen CS. Microcontact printing: A tool to pattern. *Soft Matter*. 2007;3(2):168-77. Epub 2007/01/23. doi: 10.1039/b613349e. PubMed PMID: 32680260.
3. Qin D, Xia Y, Whitesides GM. Soft lithography for micro- and nanoscale patterning. *Nat Protoc*. 2010;5(3):491-502. Epub 2010/03/06. doi: 10.1038/nprot.2009.234. PubMed PMID: 20203666.
4. Lee J, Abdeen AA, Zhang D, Kilian KA. Directing stem cell fate on hydrogel substrates by controlling cell geometry, matrix mechanics and adhesion ligand composition. *Biomaterials*. 2013;34(33):8140-8. Epub 2013/08/13. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.07.074. PubMed PMID: 23932245.
5. Tang X, Ali MY, Saif MT. A Novel Technique for Micro-patterning Proteins and Cells on Polyacrylamide Gels. *Soft Matter*. 2012;8(27):7197-206. Epub 2012/09/25. doi: 10.1039/C2SM25533B. PubMed PMID: 23002394; PubMed Central PMCID: PMC3447741.
6. Shiu JY, Kuo CW, Whang WT, Chen P. Observation of enhanced cell adhesion and transfection efficiency on superhydrophobic surfaces. *Lab Chip*. 2010;10(5):556-8. Epub 2010/02/18. doi: 10.1039/c000798f. PubMed PMID: 20162229.
7. Huang YY, Zhou W, Hsia KJ, Menard E, Park JU, Rogers JA, et al. Stamp collapse in soft lithography. *Langmuir*. 2005;21(17):8058-68. Epub 2005/08/11. doi: 10.1021/la0502185. PubMed PMID: 16089420.
8. Kassianidou E, Kumar S. A biomechanical perspective on stress fiber structure and function. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1853(11 Pt B):3065-74. Epub 2015/04/22. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.04.006. PubMed PMID: 25896524; PubMed Central PMCID: PMC4589434.
9. Rape AD, Guo WH, Wang YL. The regulation of traction force in relation to cell shape and focal adhesions. *Biomaterials*. 2011;32(8):2043-51. Epub 2010/12/18. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.11.044. PubMed PMID: 21163521; PubMed Central PMCID: PMC3029020.
10. Shiu JY, Aires L, Lin Z, Vogel V. Nanopillar force measurements reveal actin-cap-mediated YAP mechanotransduction. *Nat Cell Biol*. 2018;20(3):262-71. Epub 2018/02/07. doi: 10.1038/s41556-017-0030-y. PubMed PMID: 29403039.