

## ДИНАМИКА РАСПЛАСТЫВАНИЯ КЛЕТОК ЛИНИИ L-929 ПОСЛЕ МИТОЗА

© Ю. П. Петров,<sup>1,\*</sup> Ю. А. Негуляев,<sup>1,2</sup> Н. В. Цупкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург,

<sup>2</sup> Кафедра физико-химической биологии клетки С.-Петербургского государственного политехнического университета;

\* электронный адрес: yure3ov@mail.ru

Используя цейтраферную видеосъемку, анализировали изменение формы мышинных клеток L-929 (линия NCTC, клон 929) в течение клеточного цикла. Было установлено, что за это время клетки проходят три стадии распластывания. Наиболее быстрое распластывание наблюдается в течение первых 1.5 ч. В этот период площадь клеток возрастает согласно S-образной зависимости, увеличиваясь приблизительно в 3—3.5 раза. После короткого плато начинается дополнительное увеличение площади клеток также по S-образной кривой. Однако этот период более длительный (до 6 ч после начала деления) с дополнительным увеличением размера клеток еще в 1.5 раза. Далее увеличение площади клеток идет линейно до начала их вхождения в следующий митоз. Практически 100 % дочерних клеток линии L-929 после деления материнской клетки соединены вместе в области, соответствующей борозде деления. Это образование, известное как межклеточный мостик (intercellular bridge), относят к поздней телофазе. В таком связанном состоянии L-клетки распластываются и мигрируют в течение  $2.13 \pm 0.06$  ч, после чего разъединяются. Переход дочерних клеток от округлой формы к распластанной при одновременном сохранении межклеточного соединения в течение строго определенного времени позволяет рассматривать это явление как автономное и не относящееся к митозу. Мы предлагаем назвать цитоплазматическую связь между начавшимися распластываться дочерними клетками «посттелофазным межклеточным мостиком».

**Ключевые слова:** площадь клетки, клеточный цикл, дочерние клетки, борозда деления, посттелофазный межклеточный мостик.

При исследовании культивируемых в искусственных условиях клеток важное значение имеет анализ связи их характеристик с клеточным циклом. Обычно для этого используют синхронные культуры (Krystal et al., 1978). Чтобы синхронизировать клетки по циклу, в питательную среду добавляют митостатики, например колцемид или винбластин. Накопленные метафазные клетки отделяют (встряхиванием культурального сосуда) от остальных клеток и пересаживают в новый сосуд. Однако добавление митостатиков привносит изменения в нативность клеточной популяции, что может отражаться на полученных результатах. Использование цейтраферной видеосъемки с последующей обработкой цифровых изображений позволяет исследовать движение клеток по циклу без нарушения их нативности. Цель настоящей работы — проследить за динамикой распластывания клеток постоянной линии L-929 сразу после митоза, используя несинхронную культуру, и выявить общие закономерности в их морфологии, связанные с клеточным циклом.

### Материал и методика

Для исследования использовали постоянную клеточную линию L-929 (NCTC, клон 929, мышь), полученную из Российской коллекции клеточных культур позвоноч-

ных Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клетки культивировали в пластиковых чашках Петри (35 мм; Nunk, Дания) на среде ДМЕМ (Gibco, США), содержащей 10 % эмбриональной сыворотки коров (Gibco, США) и 100 мкг/мл гентамицина, в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> при 37 °С. При достижении субконфлюэнтного состояния клетки пересевали и через 24 ч чашку с клетками помещали на столик микроскопа AxioObserver.Z1 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия), оборудованного устройствами для долговременного прижизненного наблюдения за клетками (поддержание температуры, влажности и CO<sub>2</sub>).

Регистрацию изображений проводили в течение 1 сут в режиме цейтраферной съемки с 5-минутным интервалом между кадрами. Использовали объектив Plan-Neofluar  $\times 20/0.4$  и цифровую камеру AxioCam HRm с разрешением  $1388 \times 1040$  пикселей. Метод наблюдения — дифференциальный интерференционный контраст, адаптированный для работы с пластиком (PLASDIC). Заданные условия эксперимента поддерживали автоматически программой AxioVision 4.8.2 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Для количественного анализа использовали отдельные изображения, записанные в формате JPEG.

Делящиеся клетки анализировали с помощью программы ImageJ 1.43u (Rasband, W. S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, [307](http://ima-</a></p></div><div data-bbox=)

gej.nih.gov/ij/, 1997—2011). Оценивали два параметра: площадь проекции клетки на подложку и длину перемещения клетки по подложке в период между регистрацией изображений. Первый параметр автоматически рассчитывается данной программой при обведении контуров клетки на цифровом изображении. Одновременно с этим программа фиксирует местоположение клетки в поле зрения, используя Декартову систему координат. Зная координаты клетки между двумя временными точками (0 и 5 мин), рассчитывали длину отрезка между ними. Оба параметра измеряли в пикселях, не переводя в метрические единицы измерения, поскольку для сравнительного анализа использовали изображения при одном и том же разрешении (1388 × 1040 пикселей). За точку отсчета времени вхождения в цикл взято состояние клеток в конце телофазы, когда обе дочерние клетки легко идентифицируются.

Статистическую обработку данных проводили, используя Excel 2007 (MS Corporation, США) и Origin 6.1 (OriginLab Corporation, США).

## Результаты

Очевидно, что от одного деления до другого размер клетки должен расти. Это следует из того, что материнская клетка, готовая к делению, всегда больше каждой из образующихся дочерних. Очевидно также и то, что при усреднении какого-либо морфологического параметра его сходство для разных клеток будет лучше проявляться сразу после деления, но не к концу клеточного цикла. Это следствие того, что длина цикла всегда имеет некоторую дисперсию, связанную с изменением во времени как внутреннего состояния клетки, так и ее окружения.

Для анализа площади клеток использовали только те из них, которые за время наблюдения (24 ч) полностью прошли клеточный цикл. Общее число таких клеток составило 24. На рис. 1 представлены усредненные значения площади клеток от поздней телофазы (образование дочерних клеток) практически до завершения клеточного цикла. Понятно, что из-за разной продолжительности цикла усреднять значения площади клеток к его концу не имеет смысла (уменьшается выборка и искажается ре-

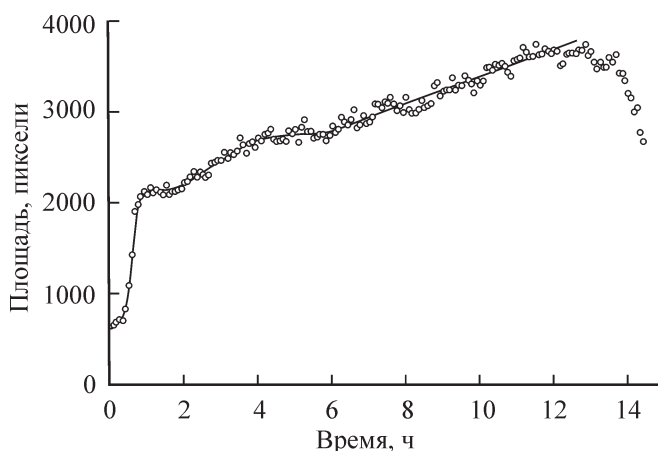


Рис. 1. Динамика изменения площади клеток L-929 в течение клеточного цикла.

Общее число делящихся клеток равно 24. Крестики — средние из 24 значений для данной временной точки, линии — расчетные кривые.

зультат). Здесь важно было показать, что к завершению цикла клетка, достигнув максимального размера, начинает уменьшаться, готовясь к делению.

Несмотря на то что выборка невелика, можно отметить следующие особенности изменения площади клеток. В целом происходит ожидаемое ее увеличение по мере продвижения клеток по циклу. Однако процесс этот не монотонный, и в нем можно выделить три стадии (фазы). В первый час происходит резкое (в 3—3.5 раза) увеличение площади клеток с выходом на короткое плато. Распластывание клеток в этот период описывается S-образной кривой с очень высоким коэффициентом линейной корреляции, равным 0.998. Далее наступает более длительный период (до 6 ч от начала вступления клеток в цикл), но с менее выраженным темпом увеличения площади клеток (в 1.5 раза). В этот период динамика изменения площади клеток также описывается S-образной кривой с коэффициентом корреляции 0.97. Далее наступает самый длинный период, т. е. через 6 ч от момента деления материнской клетки и до начала вступления дочерних клеток в следующий митоз. На этой стадии происходит линейное увеличение размера клеток (коэффициент корреляции 0.98).

Анализируя поведение культивируемых клеток L-929, нельзя обойти вниманием явление, обнаруженное более 100 лет назад как особенность гаметогенеза у многоклеточных организмов — межклеточные мостики (intercellular bridge) (Greenbaum et al., 2011). После отчетливого разделения материнской клетки на дочерние последние, расплываясь, не сразу отделяются друг от друга (рис. 2). В течение приблизительно 2 ч дочерние клетки «связаны» вместе как «сиамские близнецы». Место соединения клеток совпадает с локализацией борозды деления во время митоза. Связь эта прочная, поскольку движение дочерних клеток в противоположные стороны приводит к значительной поляризации клеток, но их разъединения не происходит. Эффект наблюдается практически у 100 % дочерних клеток. Анализ почти 70 таких пар показал, что полное отделение дочерних клеток наступает через довольно определенное время —  $2.13 \pm 0.06$  ч.

Более детальный анализ первой фазы расплывания показывает, что состоянию «плато» предшествует небольшой пик более высоких значений площади клеток, фиксируемый приблизительно через 50 мин после образования дочерних клеток (рис. 3). Расчеты длины пути передвижения клеток демонстрируют, что максимальные расстояния, на которые они могут перемещаться за 5-минутные интервалы, практически совпадают во времени с максимальными значениями площади в первой фазе клеточного расплывания (рис. 4).

## Обсуждение

При просмотре изображений, смонтированных в видеофайлы, создается впечатление, что L-клетки не только передвигаются хаотично, но и изменения их формы также происходят случайным образом. Если это действительно так, то средний размер клеток в каждый момент времени должен оставаться величиной постоянной. Такой результат был получен нами ранее на клетках СНО (Петров, Негуляев, 2011). Учитывая то, что после деления дочерние клетки увеличиваются в размере, перед тем как начать снова делиться, можно ожидать равномерного линейного роста среднего размера клеток по мере их продвижения

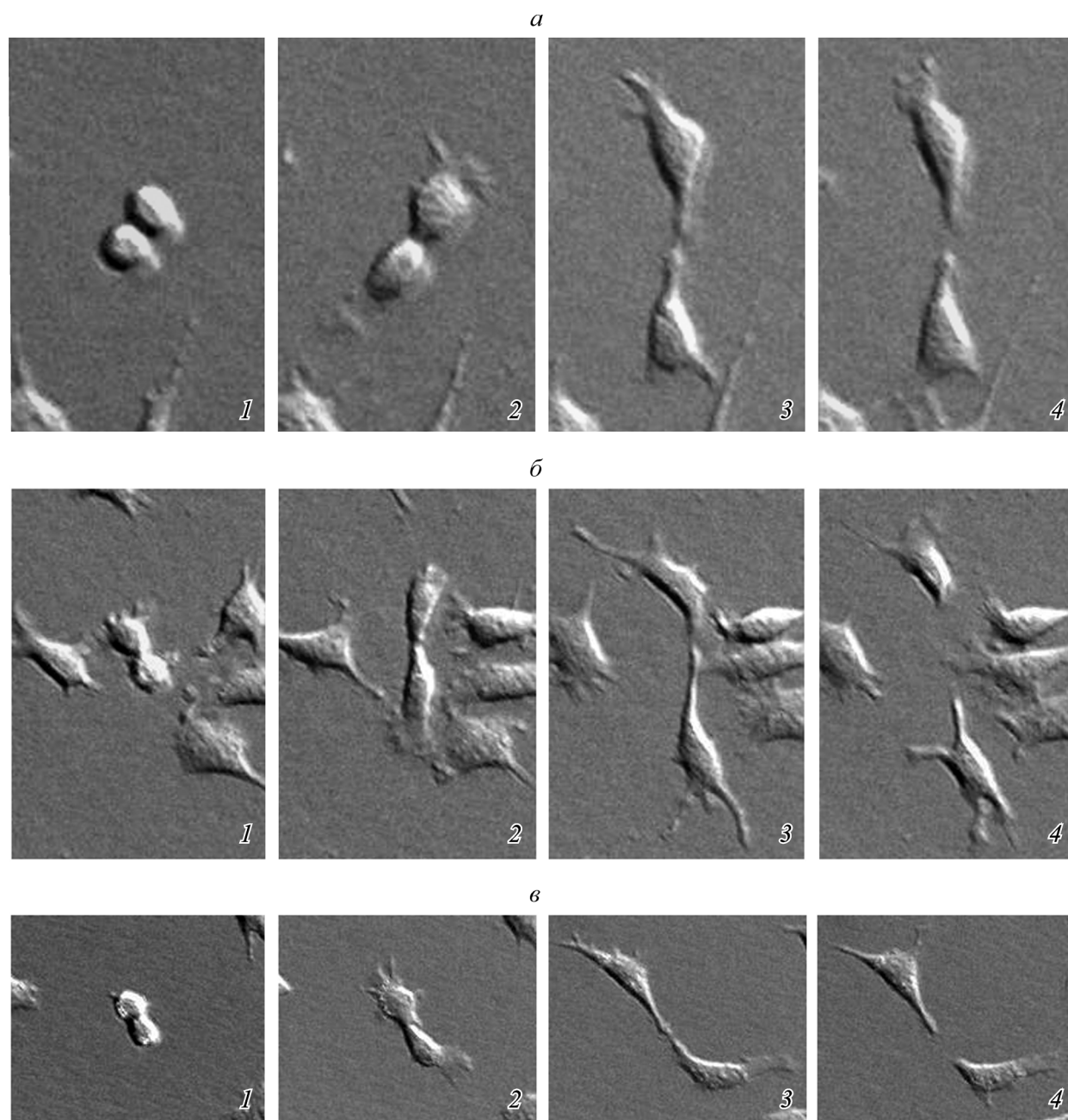


Рис. 2. Примеры (а—в) формирования (1—3) и разрушения (4) межклеточного мостика у дочерних клеток.

Объяснения см. в тексте.

по клеточному циклу. Это предположение было проверено в настоящей работе на клетках L-929. Они относятся к фибробластоподобному типу и в отличие от клеток СНО склонны к миграции и активному изменению своей формы, что вносит дополнительный «шум» при регистрации размеров клетки.

Как оказалось (рис. 1), увеличение среднего размера L-клеток во время прохождения их по циклу происходит линейно, но не постоянно, а только через 6 ч после начала образования дочерних клеток. Этой фазе предшествуют две другие, во время которых средний размер клеток увеличивается согласно S-образной зависимости. Таким образом, лишь в третьей фазе (после 6 ч) флюктуации площади клеток происходят случайным образом. Качественно иной характер изменения размера клеток во время

первых двух фаз указывает на то, что в эти периоды все клетки популяции изменяют свою морфологию не случайно, а закономерно. Поскольку этот результат был получен на клетках, для которых за точку отсчета был взят не момент посева клеток, а момент вхождения их в цикл, можно утверждать, что эти закономерности связаны не с изменениями внешней среды, а с внутренним состоянием самих клеток. Иными словами, с вхождением клеток в цикл изменения их размера происходят согласно «программам», заложенным в их наследственном аппарате. Синхронность, с которой клетки начинают изменять свою морфологию в начале цикла, говорит о достаточно высокой устойчивости клеток к влиянию внешних факторов, потенциально способных препятствовать реализации программ расплывания.

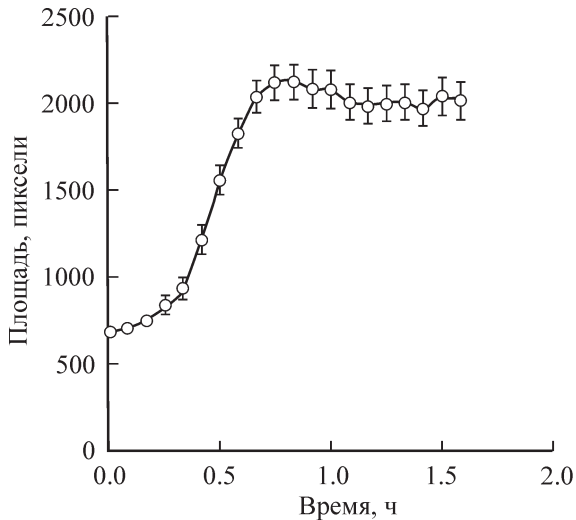


Рис. 3. Начальная фаза распластывания клеток L-929.

Площадь клеток в этой фазе достигает максимального значения к 50-й мин. Представлены средние значения для 65 клеток, вступающих в цикл. Вертикальные отрезки — ошибка среднего.

Ранее, анализируя клетки линий STO и HEP-2, мы обратили внимание на то, что распластывание клеток после пересева может иметь двустадийный процесс, причем обе фазы описываются также S-образной кривой (Petrov et al., 2007). Пересев клеток всегда сопровождается переводом их в состояние суспензии. Следовательно, после посева клетки начинают распластываться, имея округлую форму, т. е. ту же форму, что и вновь образованные дочерние клетки. И в том и в другом случае их цитоскелет отличается от цитоскелета распластанных клеток.

Все это наводит на мысль об общности процессов распластывания для культивируемых клеток. Клеточное распластывание — сложный процесс, в котором участвуют многие компоненты клеток (плазматическая мембрана, актиновый цитоскелет, система микротрубочек и т. д.). Одним из ключевых компонентов, участвующих в этом процессе, безусловно является актин (Mooney et al.,

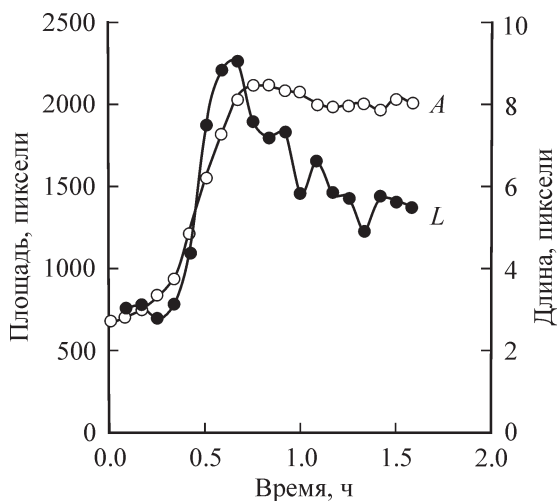


Рис. 4. Динамика изменения площади клеток (A) и их длины пробегания (L) сразу после деления материнской клетки.

Представлены средние значения для 65 клеток. По вертикальной оси справа — длина пробегания клетки за 5 мин (между двумя временными точками).

1995; Heidemann et al., 1999; Kodama et al., 2004). Как известно, динамика полимеризации актина *in vitro* имеет сходство с S-образной кривой (Khaitlina, 1986). Не исключено, что распластывание клеток на начальных стадиях в значительной степени детерминировано именно свойствами актина, регуляция полимеризации которого происходит по одной и той же программе, запускаемой сразу после образования дочерних клеток. Актин — не только компонент цитоскелета, определяющий форму клетки при ее распластывании. Он также основной белок, участвующий в движении клеток. С определенной долей вероятности можно полагать, что синхронность кривых на рис. 4 по крайней мере в течение 1 ч — это результат проявления одного и того же механизма, связанного с полимеризацией актина. Анализируя распластывание мезенхимных клеток, мы обнаружили, что после адгезии клетки не могут сразу распластываться интенсивно. Они сначала проходят фазу, при которой не происходит резкого увеличения их площади, а форма клетки не приобретает отчетливо выраженную полигональность или поляризацию (Petrov et al., 2007; Крылова и др., 2012).

Приведенные факты, связанные вместе, позволяют предположить, что формирование цитоскелета у культивируемых клеток происходит разными путями в зависимости от фазы распластывания. Наиболее отчетливо такая автономность проявляется в пределах первого часа распластывания клеток либо после адгезии, либо после образования дочерних клеток во время митоза. Начальный период распластывания клеток после деления тесно связан с феноменом межклеточного цитоплазматического мостика. Этот факт в рамках биологии клетки в культуре заслуживает более подробного обсуждения.

После обнаружения межклеточного мостика у многоклеточных во время гаметогенеза он был выявлен и у культивируемых клеток, в том числе и у клеток L-929 (Krystal et al., 1978), и у клеток CHO (Sellitto, Kuriyama, 1988). Работы по изучению межклеточного мостика можно разделить на две группы. В более ранних работах в основном исследовали морфологию этого явления (Buck, Tisdale, 1962; Ramamurty, Engels, 1977; Fiil, 1978; Woodruff, Telfer, 1978), а в последние годы большее внимание уделялось его биохимии (Yu et al., 2005; Jonsdottir et al., 2010; Greenbaum et al., 2011; Iwamori et al., 2011). Детальный анализ этих данных выходит за рамки настоящей работы. Важнее остановиться на биологическом значении этой межклеточной структуры.

Поскольку большинство работ по изучению межклеточного мостика выполнено на клетках многоклеточных организмов, почти общепринятым считается транспортная функция межклеточных мостиков, которые иногда называют «кольцевыми каналами» — «ring canal» (Robinson et al., 1997). В пользу предположения говорит хорошо изученное взаимодействие клеток в гаметогенезе (Woodruff, Telfer, 1978; Patricio, Cruz-Landim, 2006). Постоянство межклеточных мостиков в конце клеточного деления как во времени, так и при дифференцировке зародышевых клеток указывает на них как на эволюционно-консервативные структуры (Ramamurty, Engels, 1977; Iwamori et al., 2011). Таким образом, можно считать, что в процессе эволюционного становления многоклеточных организмов такой тип связи между клетками был отобран не случайно.

Тогда возникает закономерный вопрос: какова биологическая роль межклеточных мостиков у культивируемых клеток? Особое значение этот вопрос имеет для постоян-

ных клеточных линий (HeLa, L, 3T3, CHO и др.). Клетки этих линий десятки лет культивируются вне организмов, из которых они были выделены изначально. Тем не менее и данные из опубликованных работ, и полученные в наших экспериментах указывают на устойчивость феномена межклеточных мостиков у клеток постоянных линий. Нам представляется, что роль таких мостиков как облигатных транспортных каналов в тканях многоклеточных организмов утрачивается у культивируемых клеток. Причин здесь как минимум две. В многоклеточных организмах эти структуры не только часто встречаемы, но и устойчивы во времени. Их можно наблюдать в течение больше 30 ч после деления клеток (Fiil, 1978). Данных о том, как долго могут существовать межклеточные мостики между дочерними клетками постоянных линий, в литературе нет. Представленные в настоящей работе данные показывают, что время существования этих структур для культивируемых клеток L-929 значительно меньше 30 ч ( $2.13 \pm 0.06$  ч). Однако это еще не означает, что транспортная функция подобных образований не реализуется у культивируемых клеток.

Есть другая причина, заставляющая сомневаться в облигатности межклеточных мостиков для жизнедеятельности культивируемых клеток. Как следует из наших наблюдений и данных рис. 2, связь между дочерними клетками мешает их миграции. Создается впечатление, что клетки, расплываясь, стремятся разорвать связывающий их мостик. Если миграция клеток и межклеточный транспорт выступают как антагонисты, то можно считать цитоплазматические мостики атавизмом, поскольку способность клеток в культуре к миграции безусловно является их атрибутом. Конечно, как биологическое явление атавизм относится к редким событиям. Тем не менее для культивируемых клеток постоянных линий феномен межклеточных мостиков очень устойчив.

Обсуждая этот феномен с позиций биологии клетки в культуре, необходимо принимать во внимание два важных обстоятельства. Эволюция клеток в культуре не может полностью копировать эволюцию в обычном ее понимании. Теории естественного отбора клеток в культуре пока нет. Поэтому мы и не можем ничего сказать относительно причин устойчивости межклеточного мостика для культивируемых клеток. Однако нам хорошо известно, насколько стабильно такое биологическое явление, как митоз, который по сути ничем не различается у клеток в организме и у клеток в культуре. По общепринятому мнению, состояние дочерних клеток, соединенных мостиком, относится к митозу, точнее к поздней телофазе. Поскольку нет принципиальных различий в способах пролиферации клеток в тканях и в культуре, не может быть и причин для элиминации такой структуры связи дочерних клеток при их переводе из организма в культуру.

Таким образом, возникает некоторое противоречие, требующее своего разрешения. Мы считаем, что оно может быть устранено, если не экстраполировать общепринятое для многоклеточных организмов понятие «межклеточный мостик» на аналогичное по морфологии явление у культивируемых клеток. Исторически сложилось так, что митоз как процесс непрямого деления клетки противостоит амитозу. Поэтому, строго говоря, митоз характеризует деление не столько клетки в целом, сколько разделение ее генетического аппарата и формирование двух ядер. Последующее разделение цитоплазмы заканчивается образованием двух автономных клеток, и этот процесс называется цитокинезом. В настоящее время общепринято,

что цитокинез относится к поздней телофазе, поэтому завершение митоза, по сути, заканчивается с формированием автономных дочерних клеток. В большинстве случаев такое представление о митозе не противоречит логике пролиферативных процессов. Однако данные, указывающие на затруднение расхождения дочерних клеток при наличии межклеточного цитоплазматического мостика, требуют корректировки наших представлений о митотическом делении культивируемых клеток.

Видимо, правильным стоит считать митозом процесс от момента округления материнской клетки до начала расплывания дочерних клеток независимо от наличия межклеточного мостика. Функционально митоз совпадает с переключением состояния цитоскелета, характерного для расплывшихся клеток, на типичное состояние для округлых клеток. В таком случае цитоплазматический мостик между начавшими расплываться дочерними клетками (см. рис. 2) нельзя относить к телофазе. Такую структуру правильнее называть «посттелофазный межклеточный мостик». Эта формулировка необходима еще и потому, что в литературе термин «межклеточный мостик» нередко употребляется для обозначения связи клеток в случаях, не связанных с митозом (Evans, 1985; Veranic, 2008; Zani, Edelman, 2010).

В заключение подчеркнем еще раз, что «посттелофазный межклеточный мостик» в связи с его постоянством как по выявлению (почти в 100 % случаев), так и по времени существования (2 ч) и одновременным проявлением признаков атавизма требует более внимательного изучения как феномен биологии культивируемых клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

#### Список литературы

- Крылова Т. А., Кухарева Л. В., Петров Ю. П. 2012. Два состояния расплывания мезенхимных клеток эмбриона человека *in vitro*. Цитология. 54 (2) : 112—118.
- Петров Ю. П., Негуляев Ю. А. 2011. Средний размер клетки как фактор, отражающий взаимодействие клеток линии CHO в процессе их пролиферации. Цитология. 53 (8) : 670—677.
- Buck R. C., Tisdale J. M. 1962. An electron microscopic study of the development of the cleavage furrow in mammalian cell. J. Cell Biol. 3 : 117—123.
- Evans E. A. 1985. Detailed mechanics of membrane-membrane adhesion and separation. I. Continuum of molecular cross-bridges. Biophys J. 48 : 175—183.
- Fiil A. 1978. Follicle cell bridges in the mosquito ovary: syncytia formation and bridge morphology. J. Cell Sci. 31 : 137—143.
- Greenbaum M. P., Iwamori T., Buchhold G. M., Matzuk M. M. 2011. Germ cell intercellular bridges. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 3 : a005850.
- Heidemann S. R., Kaech S., Buxbaum R. E., Matus A. 1999. Direct observations of the mechanical behaviors of the cytoskeleton in living fibroblasts. J. Cell Biol. 145 : 109—122.
- Iwamori T., Lin Y.-N., Ma L., Iwamori N., Matzuk M. M. 2011. Identification and characterization of RBM44 as a novel intercellular bridge protein. PLoS ONE. 6 : 1—12.
- Jonsdottir A. B., Dirks R. W., Vrolijk J., Ogmundsdottir H. M., Tanke H. J., Eyfjord J. E., Szuhai K. 2010. Centriole movements in mammalian epithelial cells during cytokinesis. BMC Cell Biol. 11 : 1471—2121.
- Khaitlina S. Yu. 1986. Polymerization of beta-like actin from scallop adductor muscle. FEBS Lett. 198 : 221—224.

- Kodama A., Lechler T. L., Fuchs E. 2004. Coordinating cytoskeletal tracks to polarize cellular movements. *J. Cell Biol.* 167 : 203—207.
- Krystal G., Rattner J. B., Hamkalo B. A. 1978. Partial purification and characterization of the intercellular bridge from cultured mouse cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 75 : 4977—4981.
- Mooney D. J., Langer R., Ingber D. E. 1995. Cytoskeletal filament assembly and the control of cell spreading and function by extracellular matrix. *J. Cell Sci.* 108 : 2311—2320.
- Patricio K., Cruz-Landim C. 2006. Ultrastructural aspects of the intercellular bridges between female bee germ cells. *Braz. J. Biol.* 66 : 309—315.
- Petrov Yu. P., Krylova T. A., Tsupkina N. B., Pershina V. P. 2007. Spreading as a general attribute of cell population. *J. Biol. Sci.* 7 : 102—112.
- Ramamurty P. S., Engels W. 1977. Occurrence of intercellular bridges between follicle epithelial cells in the ovary of *Apis mellifica* queens. *J. Cell Sci.* 24 : 195—202.
- Robinson D. N., Smith-Leiker T. A., Sokol N. S., Hudson A. M., Cooley L. 1997. Formation of the drosophila ovarian ring canal inner rim depends on *cheerio*. *Genetics.* 145 : 1063—1072.
- Sellitto C., Kuriyama R. 1988. Distribution of a matrix component of the midbody during the cell cycle in chinese hamster ovary cells. *J. Cell Biol.* 106 : 431—439.
- Veranic P., Lokar M., Schu G. J., Weghuber J., Wieser S., Hagerstrand H., Kralj-Iglic V., Iglic A. 2008. Different types of cell-to-cell connections mediated by nanotubular structures. *Biophys J.* 95 : 4416—4425.
- Woodruff R. I., Telfer W. H. 1978. Polarized intercellular bridges in ovarian follicles of the cecropia moth. *J. Cell Biol.* 58 : 172—188.
- Yu Y. Y., Dai G., Pan F. Y., Chen J., Li C. J. 2005. Calmodulin regulates the post-anaphase reposition of centrioles during cytokinesis. *Cell Res.* 15 : 548—552.
- Zani B. G., Edelman E. R. 2010. Cellular bridges. Routes for intercellular communication and cell migration. *Communicative & Integrative Biology.* 3 : 215—220.

Поступила 29 XI 2011

#### DYNAMICS OF SPREADING OF CELLS OF L-929 LINE AFTER THE MITOSIS

Yu. P. Petrov,<sup>1,\*</sup> Yu. A. Negulyaev,<sup>1,2</sup> N. V. Tsupkina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology RAS, St. Petersburg,  
and <sup>2</sup> Chair of Physical and Chemical Biology of the Cell the St. Petersburg State Polytechnical University;  
\* e-mail: yupe3ov@mail.ru

Using time-lapse microscopy, the changes in L-929 cells shape were analyzed during a cell cycle. During this time the cells were established to pass through three spreading stages. The highest rate of the cell spreading was observed during the first 1.5 h of mitosis. In this period, the cell area increases approximately 3—3.5 times following sigmoid dependence. After a short plateau the augmentation of the cell area starts also as a sigmoid dependence. This period is longer (up to 6 ч after the beginning of cell division) with an additional 1.5-fold augmentation of the cells size. Next, the augmentation of the cells area goes linearly up to the beginning of the following mitosis. After the mother L-929 cell division, the daughter cells remained to be bridged together in the fission furrow site almost in 100 % cases. The structure known as an intercellular bridge is related to a late telophase. In this connected state the L-cells are spreading and migrating up to  $2.13 \pm 0.06$  h whereupon they are separated. Transition of the daughter cells from a round shape to the spread one occurring with the simultaneous maintenance of the intercellular bridge during a strictly determined time allows us to consider this phenomenon as independent and not relating to mitosis. We suggest naming this junction between the daughter cells as the «posttelophase intercellular bridge».

Key words: cell area, cell cycle, daughter cells, fission furrow, posttelophase intercellular bridge.