

線維芽細胞産生コラーゲンマイクロフィブリルの 広角・小角X線散乱による構造研究

○本郷 千鶴¹, 坂 貞徳², 田中 浩², 足立 浩章²

1神戸大学, 2日本メナード株式会社



背景・経緯

コラーゲンは、動物の生体内に最も多く存在するタンパク質であり、皮膚や骨、腱などの主要線維成分として、臓器の構造を支える天然線維である。コラーゲン産生量の豊富な正常ヒト皮膚線維芽細胞(NB1RGB)を培養し、核とTypeIコラーゲンを免疫染色すると、線維芽細胞(細胞サイズ:数十~百マイクロン)の周囲にコラーゲン線維が堆積していることが確認できる。しかしながらこの手法ではコラーゲンのらせん構造や長周期構造に関する情報を得ることは難しい。X線によって細胞が産生したコラーゲンからの散乱を観測出来れば、正常な線維が形成されているかを解析することが可能になる。

そこで本研究ではNB1RGBが産生するコラーゲンマイクロフィブリル由来のX線散乱をあいちSR BL8S3にて測定し、構造を解析した。

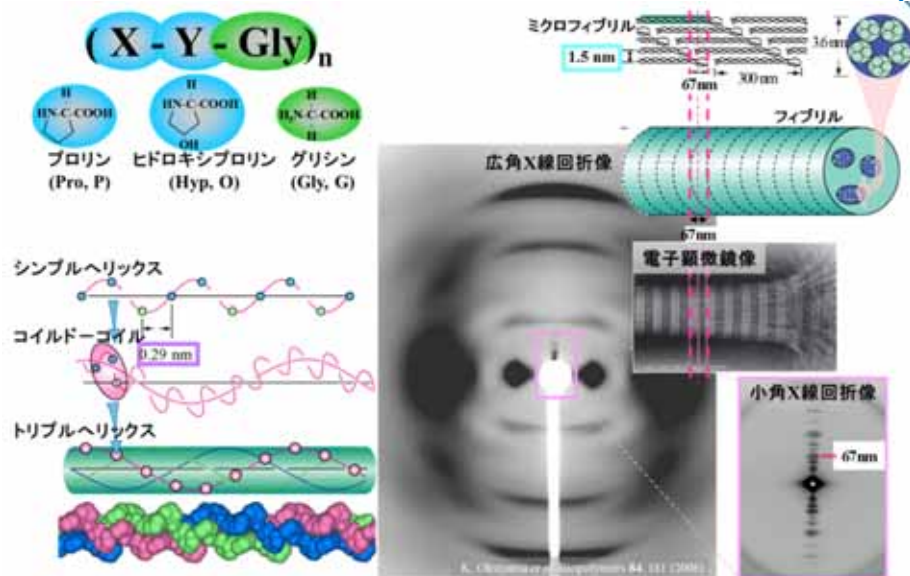


Fig.1 コラーゲンの階層構造

結果

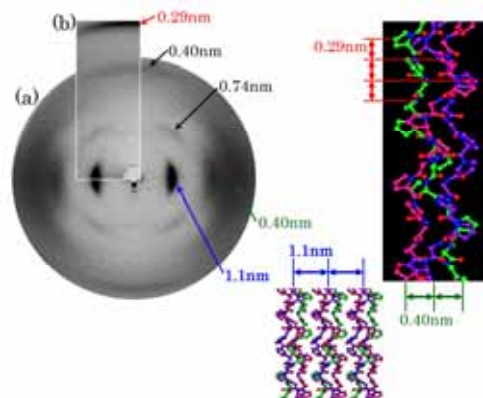


Fig.2 ラット尾由来コラーゲン線維のX線散乱像 ((a)R-Axis, (b)Pilatus)と分子モデル図

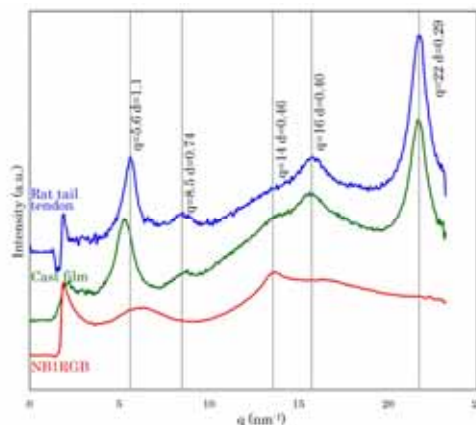


Fig.3 コラーゲン線維, キャストフィルム, 培養細胞フィルムの広角X線散乱プロファイル (あいちSR BL8S3)

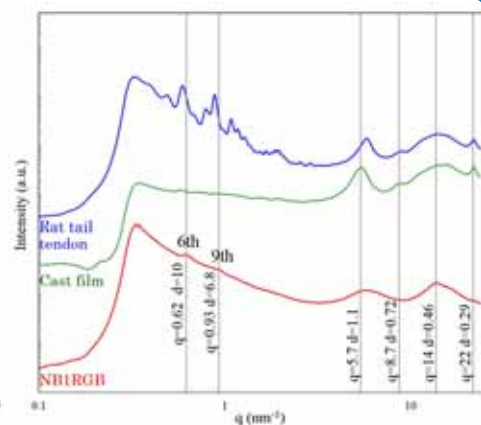


Fig.4 コラーゲン線維, キャストフィルム, 培養細胞フィルムの小角X線散乱プロファイル (Spring-8 BL40B2)

ラット尾由来コラーゲン線維は配向したピークを示し、三重らせんの周期に起因する $d=0.29\text{nm}$ の子午線回折が明瞭に観測された。赤道回折から、らせん間のパッキング距離は 1.1nm であることが分かる。

NB1RGBフィルムではらせん間のパッキング距離に起因する赤道のピークは $d=1.1\text{nm}$ であり、ラット尾由来コラーゲン線維と同様の値を示した。更に、小角領域にはコラーゲン長周期の6次および9次の回折に起因するピークがわずかに観察されたことから、培養細胞においても、精密な長周期構造を有するコラーゲン線維が形成されていることを明らかにできた。

期待される効果・社会的インパクト

今後は、本測定手法を用いて、培養条件や足場材料の変化が、コラーゲンの産生量やらせん構造、長周期構造に与える影響について評価を行う。この測定技術を確立できれば、培養手法の開発やコラーゲン産生を促進する有用物質の探索、逆に阻害剤の探索を細胞レベルで効率的に行うことが可能になるものと期待できる。