

ラマン分光法および構造シミュレーションによる 骨芽細胞ハイドロキシアパタイトの解析

Analytical study of hydroxyapatite in osteoblast tissue

by Raman spectroscopy and computational simulation

阪大院工¹, 阪大院歯², 華東理工大院理³, みずほ情報総研⁴, 日大松戸歯⁵

○橋本 彩¹, 森本 千晶², 竹立 匡秀², 山口 佳則^{1,3}, 加藤 幸一郎⁴, 福澤 薫⁵, 村上 伸也², 民谷 栄一¹

^{1,2}Osaka Univ., ³East China Univ. of Sci. & Tech., ⁴Mizuho Information & Research Institute, Inc., ⁵Nihon Univ.

○Aya Hashimoto¹, Chiaki Morimoto², Masahide Takedachi², Yoshinori Yamaguchi^{1,3},

Koichiro Kato⁴, Kaori Fukuzawa⁵, Shinya Murakami², Eiichi Tamiya¹

E-mail: hashimoto@ap.eng.osaka-u.ac.jp

in vitro において、骨形成の初期過程である骨芽細胞の石灰化過程を経時的に解析することは、骨形成機構の詳細を理解する上で極めて重要である。そこで演者らは、石灰化過程を経時的に解析するため、非侵襲な解析手法であるラマン分光法を利用してきた。これまでに、マウス間葉系幹細胞株 KUSA-A1 を骨芽細胞へと分化誘導し、その石灰化過程を顕微ラマンイメージングにより経時的に解析することに成功した[1,2]。本研究を通して、培養組織中のハイドロキシアパタイト (HA; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) から得られるラマンバンドは、HA の純物質のラマンバンドと比較して、約 7 cm^{-1} 低波数側へシフトしていることが明らかとなった。この要因として、生体内の HA が I 型コラーゲンをはじめとした、骨基質タンパク質に取り囲まれて存在することが考えられる。そこで本研究では、数種のアミノ酸を $\text{pH} = 7$, 37°C 条件下で HA に吸着させ、アミノ酸が HA に及ぼす影響について調査した。その結果、セリン等の複数のアミノ酸で、HA のラマンバンドを低波数側へシフトさせる効果が認められた。さらに、アミノ酸の HA へ及ぼす影響をより詳細に調べるため、フラグメント分子軌道 (Fragment molecular orbital; FMO) 法による HA - アミノ酸間の相互作用解析を行なった。ラマン分光法および FMO 法の結果より、HA は周囲のアミノ酸から強い引力を受けることが示唆された。したがって、生体内の HA から得られるラマンバンドの低波数シフトは、HA 周囲に骨基質タンパク質が存在する、すなわち、HA 周囲に高濃度でアミノ酸が

Summary of amino acid effect on HA Raman band 存在することに起因すると推察された。

Coat	Raman band of HA ν_1 mode [cm^{-1}]	Shift [cm^{-1}]
Non-coat	963.4	-
Aspartic acid	925.4	-0.9
Lysine	960.9	-2.5
Serine	959.7	-3.7
Glycine	960.9	-2.5
Proline	961.5	-1.9
Hydroxyproline	962.3	-1.1
Alanine	962.2	-1.3

[1] A. Hashimoto, Y. Yamaguchi, L. D. Chiu, C. Morimoto, K. Fujita, M. Takedachi, S. Kawata, S. Murakami, E. Tamiya, *Scientific Reports*. **2015**, 5, 12529.

[2] A. Hashimoto, L. D. Chiu, K. Sawada, T. Ikeuchi, K. Fujita, M. Takedachi, Y. Yamaguchi, S. Kawata, S. Murakami, E. Tamiya, *Journal of Raman Spectroscopy*. **2014**, 45, 157.

【謝辞】本研究は、JSPS 特別研究員奨励費 (No. 15J00573) の助成を受けている。