

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	黒田純平
研究機関名	大阪大学
所属部署名	生命機能研究科
役職名	助教
研究課題名	コラーゲン繊維を直交させずに平面状に一方方向に配向させる原理の解明
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

研究成果の概要

2023 年度はまず、機能未知の ECM 因子 Actinodin1 (And1), Actinodin2 (And2) に対する特異的な抗体を作製することに成功した。免疫抗体染色によって、これらはアクチノトリキア特異的に局在する因子であることを確認した。現在、この抗体を使って Actinodin と相互作用する因子の探索を試みている。また、アクチノトリキアの配向性形成に関与することが示唆されている Collagen9a1c (Col9a1c) の局在について、GFP 結合型の Col9a1c をヒレ特異的に発現させるトランスジェニックを作成し、Col9a1c の分布について調べた。その結果、And1/And2 と同様に、Col9a1c もアクチノトリキアに特異的に局在する因子であることが明らかになった。次に、FIB-SEM を用いた連続電顕によって、and1 & and2 の二重変異体におけるヒレ組織内部の微細構造を観察することに成功した。今後、この連続 SEM 像を立体構築することで二重変異体においてアクチノトリキアとこれらを取り囲む細胞群の相互作用にどのような異常が起きているのかを詳細に解析する。また、ヒレ以外の組織におけるコラーゲン繊維の動態を解析する目的として、骨を構成するコラーゲン繊維の可視化を試みた。骨芽細胞が発現する I 型コラーゲンの構成因子 Col-1a2 を GFP 標識することによって、全身の骨内部のコラーゲン繊維が蛍光標識されたトランスジェニックゼブラフィッシュを作出することに成功した。現在、脊索や腱など他の組織におけるコラーゲン繊維の可視化を試みており、これと並行して Actinodin 遺伝子を異所的に強制発現させる組換え系統の作出もすすめている。さらに、アクチノトリキアの配向性形成に関与すると推測される間葉系細胞の 3 次元培養を試みたところ、適切な濃度に調整したコラーゲングル中では、in vivo で見られるような長い仮足を発達させ活発に形態を変化させる性質があることが明らかになった。2024 年度では、間葉系細胞の動態をライブで高解像で捉えることで、アクチノトリキアの配向性が形成される過程を明らかにしたい。

