

动物结缔组织中超分子胶原液晶结构研究进展

李莉莉¹, 陈 露¹, 李 霞¹, 孙 鹏^{1,2,3}, 郝 娜¹, 蒋 波^{1*}

(1. 四川大学生物材料工程研究中心 国家生物医学材料工程技术研究中心, 成都 610064;

2. 四川大学原子核科学技术研究所 教育部核技术重点实验室, 成都 610064;

3. 武警警官学院 数学与物理学系, 成都 610213)

摘要:动物结缔组织的发生、发育及病变与结构和形态密切相关, 组织结构有序性在结缔组织发生过程中尤为明显, 结缔组织的胶原液晶结构是胶原分子自组装得到胶原纤维或组织过程中的一个过渡态。本文以重建胶原为基础分子, 讨论了三螺旋结构对胶原分子组装液晶的影响, 并分析了胶原分子液晶和超分子液晶结构转变研究进展和形成的热、动力学条件。诱导胶原液晶形成是体外模拟细胞外基质构建的关键, 为研究结缔组织形态发生机制及病变模型建立了联系, 也为仿生构建组织工程支架提供有益信息。

关键词:胶原分子; 熵致有序; 分子液晶; 超分子液晶; 结缔组织

引言

生物体内分子有序化是维持生命的基础。生物体的生长发育、肌体的新陈代谢、细胞的能量转换、信息传递、物质传输等与液晶结构密切相关。在分子尺度上观察生物体结构时, 发现生物分子在体内(水)环境中, 通过各种有序排列组合, 构成了细胞、组织和器官的基本结构。细胞膜、视网膜、神经、表皮和肌肉等组织显示出既有液体的流动性又类似晶体的有序性, 就是由生物大分子(蛋白质、脂类、核酸、碳水化合物等)在水环境中有序排列而形成的溶致液晶结构。

构成脊椎动物结缔组织基本组分之一的胶原蛋白, 在动物胚胎早期就已出现, 在随后干细胞或细胞分化、迁移及其组织发生、形成过程中, 其结构变化有着极重要的作用。同时结缔组织疾病中主要的疾病——胶原病的发生与胶原蛋白分子、超分子结构及组织形态密不可分。从结缔组织细胞分泌出胶原分子到结缔组织完全形成, 胶原液晶是这个长程有序自组装的中间过程^[1]。体外模拟这个自组装过程是研究结缔组织早期发生及病变过程的途径之一, 也为仿生构建组织工程支架提供有益信息。

1 动物结缔组织中超分子胶原液晶与形态

结缔组织是人体四大基本组织之一, 具有连接、支持、保护、营养等多种功能。偏振光显微镜(PLM)研究致密结缔组织的结构发现, 不同结缔组织不仅纤维(fiber)直径不同, 其组织特异性的超纤维结构(super-fibrillar structure)与形态也不一样。图 1a 中角膜^[2]或鱼鳞^[3]胶原纤维以多层方式排列, 每一层中所有纤维平行, 相邻层之间以一个不变的角度(通常为 90°)周期性扭曲。整体结构类似层板, 从斜切面观察呈一系列弧形结构。图 1b 是从径向观察密质骨中骨单位的层板结构, 层板以同轴的圆柱体排列, 层纹线与层纹线之间呈现出螺旋状周期性旋转^[4]。图 1c 中腱和韧带的胶原纤维为单轴取向, 呈现出起伏和规则卷曲^[5,6]。图 1d 真皮组织中胶原纤维形成一个复杂的局部有序三维网状结构^[7]。由此可见结缔组织结构多样性源于胶原纤维的排列形式、远程起伏的程度及邻近纤维层间的夹角, 并由此决定了不同的结缔组织宏观生物物理性能特点, 如角膜的光学透明^[2]、骨抵抗负载的各向异性^[8]、肌腱的抗拉伸和剪切^[9]、真皮各向同性的弹性性能等等。

收稿: 2013-01-22; 修回: 2013-05-21;

作者简介: 李莉莉(1986), 女, 安徽省六安人, 四川大学硕士研究生, 主要从事组织工程及生物材料研究。E-mail: lilili_0509132@126.com, Tel: 18317056012;

* 通讯联系人, E-mail: bjiang@scu.edu.cn; Tel: 028-85415977.

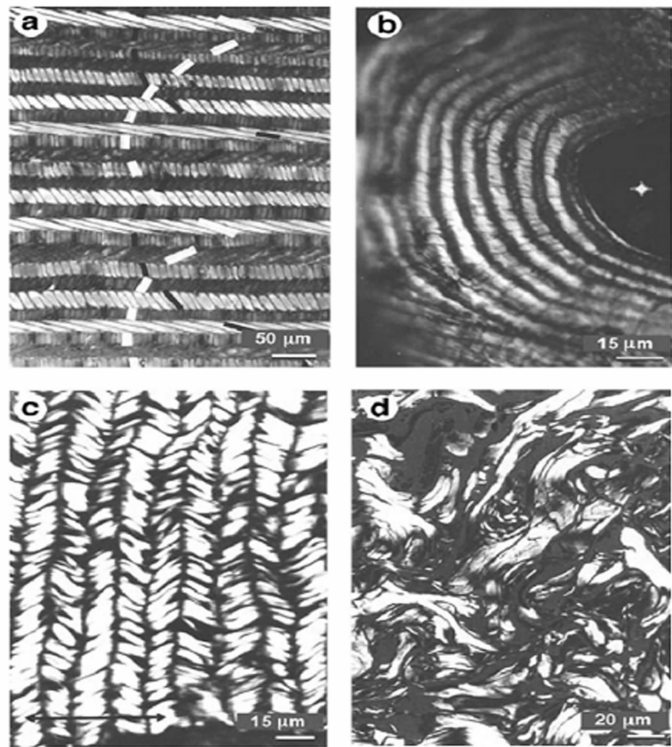


图 1 偏振光显微镜(PLM)观察不同结缔组织胶原纤维的形态^[10~11]

a. 角膜或鱼鳞的层状结构;b. 骨单位中的胆甾相液晶;c. 腱中波状结构的预胆甾相液晶;d. 真皮中网状结构

Figure 1 Collagen fibrillar arrangements in various connective tissues by PLM

(a) fish scale or the cornea; (b) bone osteon; (c) tendon (crimp structure); (d) dermis of skin

结构生物学研究表明,体现结缔组织各种生物物理性能的是超分子胶原液晶结构,其结构基础是动物体内最丰富的纤维蛋白分子 I 型胶原。迄今为止,通过电子显微镜(EM)和 X 射线衍射(XRD)等研究发现,典型的胶原复杂层次结构(如图 2 所示)表现为,五个胶原分子首先组装为微纤维(microfibril),微纤维组装成类似六边形晶体的原纤维(fibril)^[12],原纤维再组装成纤维(fiber)或纤维束(fiber bundle)等大聚集体,进而形成组织和器官。

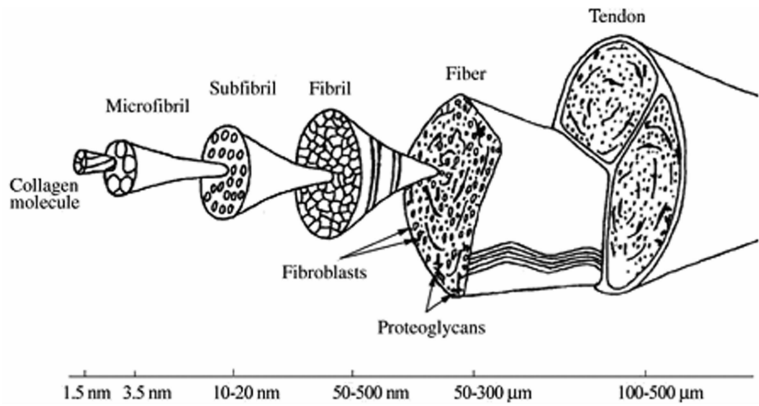


图 2 腱的层次结构^[13]

Figure 2 Consecutive fibril packing in the tendon

尽管各种组织的结构与性能随胶原蛋白超纤维层次结构和量的变化而不同,但以 I 型胶原分子为基本结构的超纤维有序体,介于各向异性晶体(有序周期结构)和各向同性液体(无规结构)之间近似液晶结构,如角膜和鱼鳞中的薄层结构类似胆甾相液晶,腱的波状结构相似于预胆甾相液晶排列。动物体内许

多组织和器官都具有液晶特征^[14],是以软物质(如皮)或硬物质(如骨)形式存在生物体内的生物液晶。

目前对体内结缔组织细胞调控胶原超纤维形成生物液晶的机理了解不多,在体外用重建胶原分子(reconstituted collagen)模拟方式已取得进展,其目的是对相应组织的发生、发育、病理结构及组织工程重建等研究提供有益信息。

2 最基本的自组装产物原胶原分子

结缔组织中胶原超纤维有序特征与原胶原(procollagen)分子的特殊结构密切相关,然而原胶原分子本身也是自组装产物。胶原蛋白是一个大家族,迄今文献已报道 27 种胶原分子。以体内含量最丰富的 I 型胶原为例,由三条各含 1052 个氨基酸的多肽链扭曲而成,分子结构表示为 $[\alpha_1(I)]_2\alpha_2(I)$ 。与功能相关的蛋白质空间结构由肽链间组装实现,丰富多彩的蛋白质空间结构构成,有的只有一条多肽链(例如肌红蛋白),有的两条(如胰岛素)、三条(如原胶原分子,见图 3),甚至多条多肽链(如血红蛋白分子有四条多肽链)等。但大多数蛋白质的同一条多肽链中,氨基酸一般不会有周期性的重复顺序,原胶原分子域的肽链中却有 Gly-X-Y 三肽的高重复序列存在。在空间位阻和非共价键力的共同作用下,不但促使左手 α 螺旋的单肽链形成,也留下 α -肽链进一步组装成右手超三螺旋结构的余地。

三重螺旋结构是一种错位的结构,来自三条肽链的 Gly 残基沿着螺旋的中心轴堆积(如图 4 所示)。在三维空间上,一条链上的 Gly 处于和其它两条链的 X 和 Y 残基相邻的位置,因而使三条 α 肽链中的 Gly、X、Y 残基位于同一水平上。借每个 Gly 残基中的 N—H(氢键)与另一条肽链上相连的 X 残基上的 C=O 形成牢固的氢键,由于 Hyp 残基的羟基通过与水形成氢键,三重螺旋结构得到了稳定和增强。同时原胶原分子端肽链间的共价键(如—S—S—)交联是稳定三重螺旋结构的进一步作用力。因此,原胶原分子三螺旋结构是空间位阻、非共价键力及共价键交联等作用下肽链间自组装成更稳定结构的结果,得到的是一个具有手性、表面带有沟槽和很大长径比的棒状分子(分子长约 300nm,直径约 1.5nm)。



图 3 原胶原分子三螺旋结构域示意图

Figure 3 Schematic illustration of triple helix domain for procollagen molecule

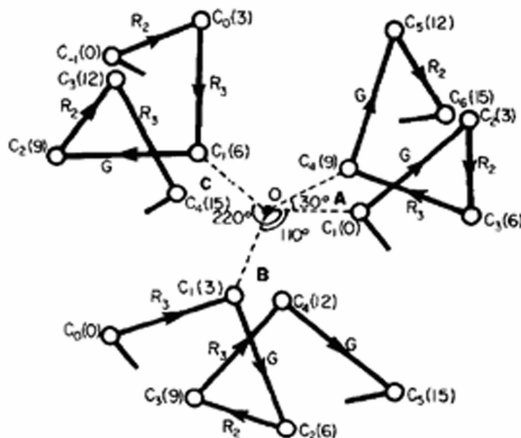


图 4 原胶原分子三螺旋投影示意图

Figure 4 Schematic illustration of triple helix projection for procollagen molecule

3 胶原分子液晶

在酸性稀溶液中重建胶原分子无规地分布在溶剂中,得到各向同性的分散结构。随着浓度增加这个稳定的分散结构变得不稳定,当超过某个临界浓度后分子向某种有序的状态——向列相转变,得到各向异性结构^[15]。随着胶原浓度进一步增加,胶原分子逐次发生向列相转变、预胆甾相起伏、胆甾相扭曲,如图 5^[16]所示。迄今为止在体外已发现胶原分子形成向列相、预胆甾相、胆甾相三种液晶结构^[17,18]。令人惊讶的是,动物结缔组织中纤维的排列方式与体外变换浓度获得的胶原分子有序排列方式极其相似,真皮中对齐的胶原束类似于分子向列相排列^[19],腱中起伏原纤维规则的卷曲类似于预胆甾相^[20],角

膜^[21~23]和密质骨^[24~26]中纤维之间的周期性旋转类似于胆甾相扭曲。

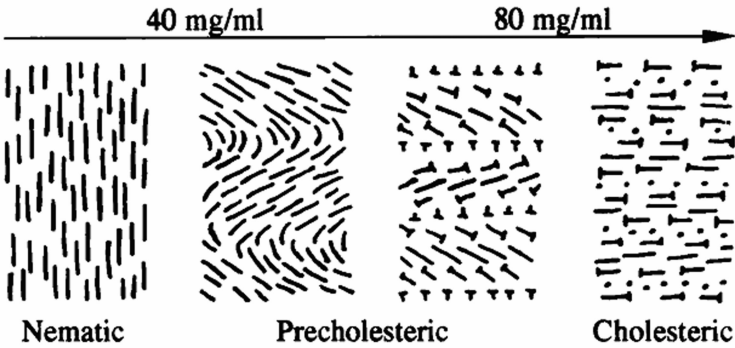


图 5 胶原分子液晶的结构变化^[16]

Figure 5 Structural changes of collagen molecular liquid crystals

Giraud-Guille 等^[27]进一步研究了酸性高浓度 I 型胶原的斜切面,用 PLM 观察到双折射周期性黑白花纹如图 6(5)所示,透射电镜(TEM)观察到每一个周期中的弧形图案,如图 6(1)下部白色箭头所示。显然这种周期性变化与胶原分子的某种排布方向有关,由此推测胶原分子在同一平面上平行排列,在不同平面上胶原分子以连续的方式旋转如图 6(②、③、④所示)。在 PLM 图中当胶原分子与平面平行时观察到白色条纹,与平面垂直时观察到黑色条纹,与平面倾斜时对应灰色条纹。这时的酸性高浓度 I 型胶原是以分子状态形成的胆甾相液晶。

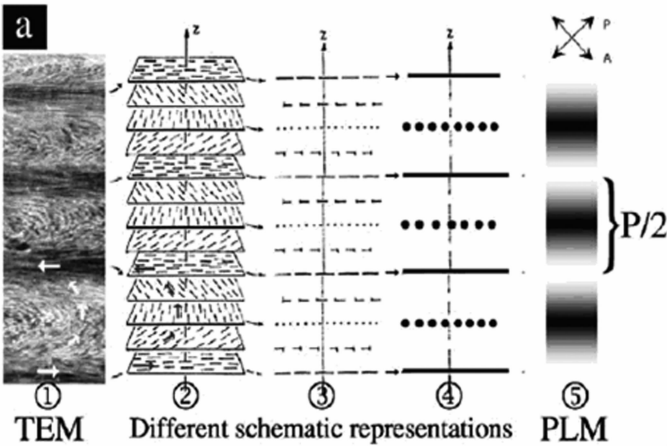


图 6 胶原分子胆甾相液晶结构^[27]

①胶原凝胶斜切面的 TEM 图,白箭头表示同周期中分子层方向变化;② 稳定的浓胶原中胆甾相结构。在平面上分子优先取向排列,平面间沿着 Z 轴螺旋旋转。在溶液中以连续的方式而在凝胶中以不连续的方式;③ 表明分子取向的变化:
(-)分子与平面平行;(-)分子的左边指向平面;(•)分子与平面垂直;(+)分子的右边指向平面;④简化图:
(-)分子与平面平行;(•)分子与平面垂直;⑤ 胆甾相液晶溶液的 PLM 图。胆甾相轴由 Z 轴表示且 P/2 为半螺距。

Figure 6 Cholesteric liquid crystalline organization of collagen molecules^[27]

① Oblique section of a stabilized dense collagen gel as observed by TEM, the white arrows indicate the direction of the molecular layers in the same cycle; ② Scheme illustrating the cholesteric organization of the fibrils within the stabilized dense collagen gel. The fibrils are arranged on planes in preferential directions. Each plane helicoidally rotates with respect to the next along the z axis in a continuous way in solutions and with discretized angles in stabilized gels; ③ Schematic illustration indicating the variation in orientation of the molecules: (-) molecules are parallel to the plane; (-) the left sides of the molecules point towards the plane; (•) molecules are perpendicular to the plane; (+) the right sides of the molecules point towards the plane; ④ Reductive scheme indicating only the planes where the molecules are parallel (-) or perpendicular (•) to the plane; ⑤ Aspect of a cholesteric liquid crystalline solution is observed by polarized light microscopy. The cholesteric axis is indicated by the z-axis and P/2 is half of the pitch.

经典液晶理论认为分子长度、空间构型、分散相浓度是产生胆甾相液晶三个必备参数^[17]。胶原分子是一个刚性棒状分子,具有很大的长径比 $L/D=300\text{nm}/1.5\text{nm}=200$ 。高浓度时同层中棒状分子移动困难,也很难交叉相互渗透,只有分子平行并分层排列为降低占有体积。出现层间扭曲源于胶原层间的空间位阻,是高浓度分散体系层间接触造成^[28],表面带有沟槽及亲疏水基的手性分子层间堆积,决定了相邻层之间的取向,以获得最大空间。Neville 首先提出胶原螺旋中分子构象和角度旋转之间的关系^[29],每一层产生平行且等距的凹槽,产生的凹槽有两种分布:第一种与原层平行,第二种与原层轴倾斜。由此第二层分子排布方式有两种,排在三螺旋分子间的凹槽中,与初始的那层分子方向平行如图 7a,或排在与初始的那层倾斜成一个角度第二种凹槽中,倾斜排列产生扭曲组装如图 7b 所示。因此高浓度时与分子手性有关的几何因素控制层之间取向的变化。

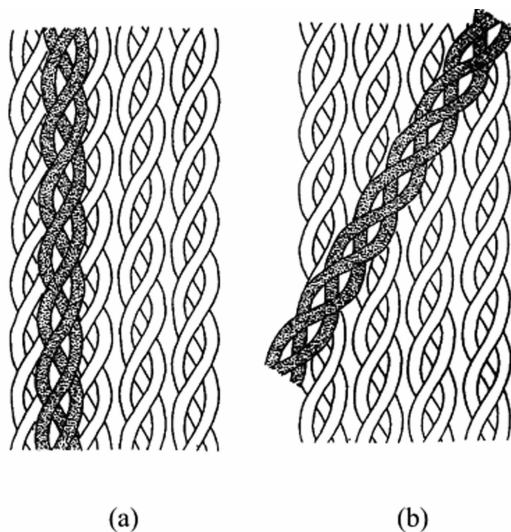


图 7 胶原螺旋中分子构象和角度旋转之间的可能关系^[29]

Figure 7 Possible relations between molecular conformation and angular rotation in collagen helicoids^[29]

在重建胶原液晶中也发现了平面扭曲和圆柱体扭曲两个主要类型的胆甾相扭曲(如图 8 所示)^[29],其中共轴的圆柱体扭曲即为螺旋状扭曲。这两种扭曲在动物结缔组织中角膜表现为平面扭曲,骨单位表现为螺旋状扭曲。

4 分子液晶与超分子液晶转变

研究动物组织结构发现不同的结缔组织具有不同组织特异性超纤维结构,并且纤维的直径也不同,显然构成结缔组织不是分子液晶(molecular liquid crystal)而是超分子液晶(super-molecular liquid crystal)。与其它分散体系一样,胶原溶液的稳定性与溶液浓度(C)、离子强度(I)、pH 值及温度(T)等动力学条件密切相关^[30],改变动力学条件分子间非共价作用力发生变化,都可能驱使胶原分子发生移动或重排,产生不同液晶结构的聚集体。

Besseau 等在临界浓度至少为 100mg/ml 的酸性分散相中用 PLM 观察到指纹性花纹双折射^[31](如图 9a 所示),并且两个暗纹之间的距离为半胆甾相螺距,显示其分子取向为 180° 旋转(见图 9b),这是胆甾相液晶特征证据。用氨水蒸气提高粘弹性胶原溶液的 pH 值后,在室温下通过短程分子位移自组装形成纤维,不干扰分子的远程顺序,胆甾相半间距($P/2$)未作任何改变,得到稳定的胶原纤维液晶,如图 9c 所示 TEM 观察到弧形花纹,但此时单体分子间连续的胆甾相扭曲转变为纤维之间不连续的扭曲。分子液晶向超分子液晶转变过程如图 10 所示^[18]。当中性条件诱导胶原分子发生自组装形成纤维时,生成的纤维依然在每一个平面上平行取向排列,平面与平面之间的纤维以一个螺旋状的不连续的方式沿着 Z 轴螺旋旋转,在溶液中以连续的方式而在稳定的凝胶中以不连续的方式,TEM 在稳定的浓胶原溶液或凝胶中可观察到具有弧形花纹分子或纤维构成的胆甾相结构如图 6(1)和图 9c 所示。

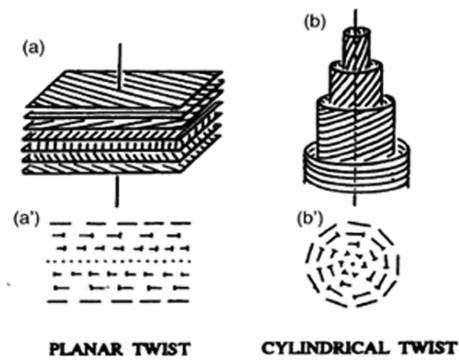


图 8 胆甾相扭曲的两个模型^[29]

(a)在平面扭曲中,每一个平面上分子相互平行,平面间的方向规则旋转;(a')胆甾相中分子取向变化,线代表分子与所在平面平行;点代表分子与所化平面垂直;钉子代表斜位上的分子,点指向观察者;(b)圆柱状的扭曲,等距且平行的螺旋在一系列共轴的圆柱体上,从一个圆柱体到另一个圆柱体螺旋规则旋转;(b')胆甾相中分子取向变化。

Figure 8 Two major types of cholesteric twists^[29]

(a) In a planar twist, equidistant straight lines are drawn on horizontal planes, and the direction of the lines rotates regularly from plane to plane; (a') In the conventional notation for a cholesteric geometry applied to a planar twist, lines represent molecules longitudinal to the drawing plane and dots represent molecules perpendicular to it; molecules in oblique position are represented by nails whose points are directed toward the observer; (b) In a cylindrical twist, equidistant helices are drawn on a series of coaxial cylinders, and the angle of the helices rotates regularly from one cylinder to the next; (b') Conventional representation of a cholesteric geometry applied to a cylindrical twist.

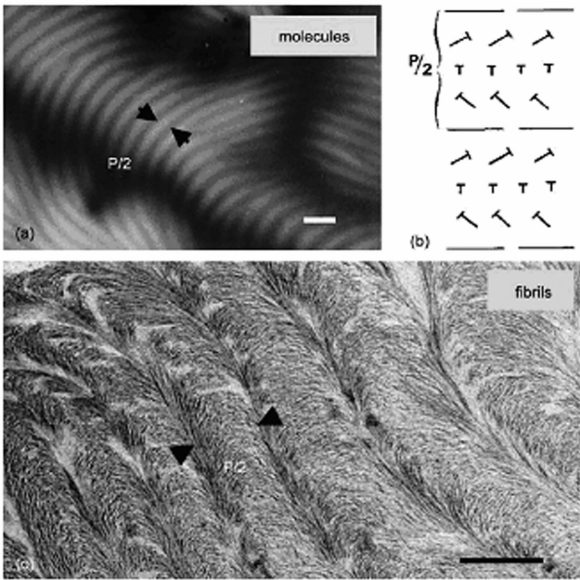


图 9 分子液晶 PLM 图和超分子液晶 TEM 图^[31]

- a. 酸溶高浓度胶原的分子液晶 PLM 图,bar=5um; b. 分子液晶取向图,P/2 符合分子取向的 180°旋转;
c. 中性高浓度胶原的超分子液晶 TEM 图,规则的弧形花纹,bar=0.5um。

Figure 9 Molecular liquid crystal by PLM and super-molecular liquid crystal by TEM^[31]

(a)Scheme illustrating molecular liquid crystal observed by PLM in acid soluble collagen solution at high concentration, bar=5mm;
(b)Diagram of the orientation of molecular liquid crystal, P/2 corresponds to a 180°rotation of the molecular direction;
(c) Scheme illustrating supra-molecular liquid crystal observed by TEM in neutral collagen solution at high concentration, evidenced by regular series of arced patterns, is maintained. TEM, bar=0.5mm.

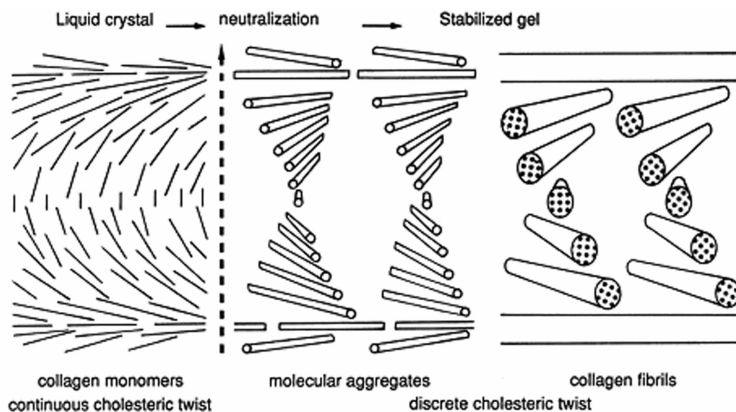


图 10 分子液晶向超分子液晶转变^[18]

胶原分子间连续扭曲和胶原原纤维间不连续扭曲,溶胶-凝胶转变不改变半胆甾相间距

Figure 10 Transition from molecular liquid crystal to super-molecular liquid crystal

After gelation point, the continuous twist between collagen monomers disrupts in discrete steps leading to the formation of a discontinuous twist between molecular aggregates or between collagen fibrils. The sol-gel transition does not induce modification of the half cholesteric pitch.

胶原是两性分子,在 pH 值为酸性的溶液中胶原分子表面带有相同的电荷,与周围的反离子构成稳定的双电层。同时大量 H^+ 存在使胶原分子中的羧基被质子化,在胶原分子间形成 $>C=O \cdots \cdots NH<$ 氢键的机会较小,这两个特点都增加了胶原溶液的稳定性,阻止了胶原分子聚集。因此在酸性稀溶液条件下,静电斥力的增加、胶原分子间的相互作用减弱,胶原的分子水合能力增加,不利于胶原分子聚集沉淀或超分子形成。在酸性条件时增加胶原浓度,亲水及疏水基团总量也增多。此时,亲水基团作用效果减弱,疏水基团的作用效果加强。总的结果是胶原分子由于疏水作用力增强而相互靠近,又由于正电荷之间的斥力而相互远离,平衡的结果形成分子液晶。

如果中和酸性 pH 值接近胶原分子的等电点时,一方面溶液中的 $[H^+]$ 已非常小,胶原中的羧基主要以 $>C=O$ 存在,为形成分子间氢键 $>C=O \cdots \cdots NH<$ 创造了条件,胶原分子间能够自组装为纤维,溶液由清亮变混浊;另一方面,等电点时净电荷为零,静电相互作用最小,分子间的疏水作用最强,靠着这种作用力,胶原分子相互吸引形成更大的分子聚集体,最终形成沉淀或凝胶。这就是胶原溶液在酸性条件下较稳定,而在中性条件下胶原分子将有序地排列,自组装为层状结构的胶原纤维的原因。

因此,体外分子液晶与超分子液晶转变及与分散体系动力学条件变化和状态表述在图 11^[32] 中,这些变化过程有的是可逆的,有的是不可逆的,取决于体系的热动力学平衡。

5 总结

胶原分子液晶及超分子液晶形成是一个熵致有序的过程,这个过程是由热、动力学条件和分子本身特性决定。但是目前研究分子有序化及自组装超分子液晶时,选择基本分子是去端肽的重建胶原分子,并不是含端肽的原胶原分子,未考虑端肽诱导分子有序性和自组装的影响,在体内端肽对原胶原分子有序化具有不可忽视的作用。同时大多数结缔组织功能层中,胶原密度大于 60mg/mL,体外获取如此高浓度较困难,用这种极高粘度液体仿生构建超分子液晶仍在探索中。更进一步说,构成细胞外基质的其它分子(如其它蛋白、糖蛋白、蛋白多糖等)以及结缔组织细胞本身对胶原原纤维、纤维、纤维簇及组织构建的调控机制还不清楚。尽管如此,胶原液晶结构对某些结缔组织细胞及干细胞生长、分化的影响已被体外实验证明。

动物结缔组织的发生、发育及病变与结构和形态密切相关,结缔组织结构有序性在结缔组织发生过程中尤为明显,液晶结构是胶原分子自组装得到胶原纤维或组织过程中的一个过渡态。通过体外诱导生成稳定胶原液晶结构,对这个过渡态体外模拟研究,是体外模拟细胞外基质的关键,为研究结缔组织形态

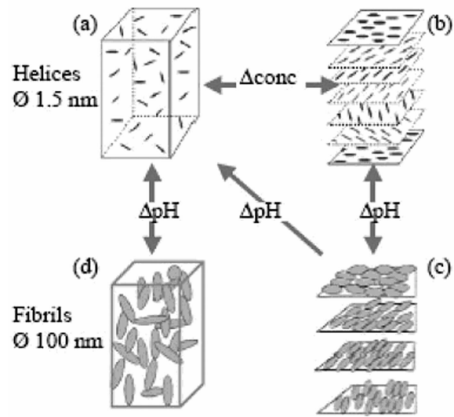


图 11 胶原分子液晶、超分子液晶与溶液、凝胶之间的转变^[32]

(a)在稀溶液中,胶原三螺旋分子排列无序,溶液具有流动性;(b) 在浓溶液中,胶原三螺旋分子自组装形成手性向列相或胆甾相排列,溶液具有流动性;(c) 在浓凝胶中,胶原原纤维呈手性向列相或胆甾相有序排列,凝胶不具有流动性;(d) 在稀凝胶中,胶原原纤维无序排列,凝胶不具有流动性

Figure 11 Transitions among collagen molecular liquid crystal, super-molecular liquid crystal and solution, gel^[32]

(a) In dilute solution, the arrangement of collagen helices is disorder, and the solution has fluidity;
(b) in concentrated solution, collagen helices self-assemble into chiral nematic phase cholesteric phase, and the solution has fluidity; (c) in concentrated gel, collagen fibrils appear chiral nematic or cholesteric phase, the gel does not have fluidity; (d) in dilute gel, collagen fibrils are disordered, the gel does not have fluidity.

发生机制及病变模型建立了联系。因此,超分子胶原液晶研究仍然从生物化学和生物物理方向上向结缔组织基本结构逼近。

参考文献：

[1] Giraud-Guille M M, Belamie E, Mosser G, Helary C, Gobeaux F, Vigier S C R. Chim, 2008, 11(3): 245~252.
[2] Torbet J, Malbouyres M, Builles N, Justin V, Roulet M, Damour O, Oldberg A, Ruggiero F, Hulmes D J S. Biomaterials, 2007, 28(29): 4268~4276.
[3] Bigi A, Burghammer M, Falconi R, Koch M H J, Panzavolta S, Riekel C. J Struct Biol, 2001, 136(2): 137~143.
[4] Giraud-Guille M M. Calcif Tissue Int, 1988, 42(3): 167~180.
[5] Squier CA, Bausch W. Cell Tissue Res, 1984, 238(2): 319~327.
[6] Provenzano PP, Vanderby R. Matrix Biol, 2006, 25(2): 71~84.
[7] Yasui T, Tohno Y, Araki T. J Biomed Opt, 2004, 9(2): 259~264.
[8] Weiner S, Traub W, Wagner H D. J Struct Biol, 1999, 126(3): 241~255.
[9] Benjamin M, Kaiser E, Milz S. J Anat, 2008, 212(3): 211~228.
[10] Giraud-Guille M M, Mosser G, Belamie E. Curr Opin Colloid Interface Sci, 2008, 13(4): 303~313.
[11] Hulmes D J S. J Struct Biol, 2002, 137(1): 2~10.
[12] Hulmes D J S, Miller A. Nature, 1979, 282: 878~880.
[13] Nikolaeva T I, Tiktopulo E I, Il'yasova E N, Kuznetsova S M. Biophysics, 2007, 52(5): 489 - 497. [14] Bouligand Y C R. Chim, 2008, 11(3): 281~296.
[15] Belamie E, Mosser G, Gobeaux F, Giraud-Guille M M. J Phys: Condens Matter, 2006, 18(13): S115~S129.
[16] Giraud-Guille M M, Besseau L. Conn Tissue Res, 1998, 37(3/4): 183~193.
[17] Giraud-Guille M M. J Mol Biol, 1992, 224(3): 861~873.
[18] Besseau L, Giraud-Guille M M. J Mol Biol, 1995, 251(2): 197~202.
[19] Melis P, Noorlander M L, van der Horst C M A M, van Noorden C J. Plast Reconstr Surg, 2002, 109(2): 674~680.
[20] Silver F H, Freeman J W, Sehra G P. J Biomech, 2003, 36(10): 1529~1553.
[21] Meek K M, Boote C. Prog Ret Eye Res, 2009, 28(5): 369~392.
[22] Trelstad R L, Coulombre A J. J Cell Biol, 1971, 50(3): 840~858.
[23] Daxer A, Fratzl P. Invest Ophth Visual Sci, 1997, 38(1): 121~129.

- [24] Weiner S, Wagner H D. *Annu Rev Mater Sci*, 1998, 28(1): 271~298.
- [25] Giraud-Guille M M. *Calcif Tissue Int*, 1988, 42(3): 167~180.
- [26] Giraud-Guille M M, Besseau L, Martin R. *J Biomech*, 2003, 36(10): 1571~1579.
- [27] Mosser G, Anglo A, Helary C, Bouligand Y, Giraud-Guille M M. *Matrix Biol*, 2006, 25(1): 3~13.
- [28] Parkinson J, Kadler K E, Brass A. *J Mol Biol*, 1995, 247(4): 823~831.
- [29] Cowin S C. *J Non-Newtonian Fluid Mech*, 2004, 119(1): 155~162.
- [30] Gobeaux F, Mosser G, Anglo A, Panine P, Davidson P, Giraud-Guille M M, Belamie E. *J Mol Biol*, 2008, 376(5): 1509~1522.
- [31] Giraud Guille M M, Mosser G, Helary C, Eglin D. *Micron*, 2005, 36(7): 602~608.
- [32] Eglin D, Mosser G, Giraud-Guille M M, Livage J, Coradin T. *Soft Matter*, 2005, 1(2): 129~131.

Progress on Structures of Supramolecular Collagenous Liquid Crystal in Animal Connective Tissue

LI Li-li¹, CHEN Lu¹, LI Xia¹, SUN Peng^{1,2,3}, HAO Na¹, JIANG Bo^{1*}

(1. *National Engineering Research Center for Biomaterials, Engineering Research Center in Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064, China;*

2. *Key Laboratory for Radiation Physics and Technology of the Ministry of Education, Institute of Nuclear Science and Technology, Sichuan University, Chengdu 610064, China;*

3. *Department of Mathematics and Physics, Officers College of CAPF, Chengdu 610213, China)*

Abstract: The occurrence, development and pathological changes of animal connective tissue are closely related to their structures and morphologies, and particularly the orderliness on the structure of tissue is apparent, liquid crystalline structures of collagen in connective tissue are a transition state that collagen molecules self-assemble into collagen fibers or tissue. Based on reconstituted collagen molecules, we have discussed that triple helical structure has an impact on collagen molecules assembling into liquid crystal, and have analyzed research progress on structural transformation of collagen molecular liquid crystal and super-molecular liquid crystal, as well as thermal and dynamic forming conditions. Inducing the formation of collagen liquid crystal is the key to simulate construction of the extracellular matrix in vitro. It not only established contact for studying the mechanisms of connective tissue morphogenesis and pathological process, but also provided useful information for building tissue engineering scaffolds.

Key words: Collagen molecules; Entropy induced order; Molecular liquid crystal; Super-molecular liquid crystal; Connective tissue