[研究新領域報導]

牛物礦化

台灣大學化學系 陳振中

#### -、導言

生物礦化(biomineralization),是指在生物體 內礦物質的形成過程。通過體內的有機巨分子, 生物體可在奈米的尺度上精確地控制著體內無 機礦物的結晶行為。在生物體中形成的礦物質與 一般的天然礦物無論在大小、晶癖、化學成份以 至同位素含量等都有極大差異。到目前為止,我 們知道有多達六十多種的礦物質,在生物界中被 **廣泛地用於外殼、牙齒和骨骼等硬組織的構成** [1]。以骨骼為例,其最基本的結構單元,就是磷 灰石(hydroxyapatite)以一特定方向附於膠原纖維 上,因此生物源礦物(biominerals)都是典型的複 合材料。生物礦化有兩種模式,其一為細胞局部 改變周遭微環境(microenvironment)的化學成 份,讓礦物質得以沉澱和結晶,稱為「生物誘導 礦化」(biologically induced mineralization)[2]。此 外,生物體亦會以有機基質(organic matrix)形成 特定空間,讓無機物在其中結晶,稱為「有序邊 界礦化」(boundary-organized mineralization) [3]。 生物礦化的研究,與生物材料的發展可說息息相 Image: Baseline and Amage: Baseline and Am 以替代損傷或壞死的組織。目前人造骨骼的材料 大多為高分子聚合物、金屬、陶瓷、磷灰石和生 物活性玻璃等,但這些材料在植入人體十至廿五 年後的失效率相當高。隨著醫療保健的不斷發 展,許多國家的人均年齡都有所提高,以致醫學 界對人造骨骼無論在量與質方面都有殷切需 求。目前文獻上普遍認為,新一代的人造骨骼, 應以能刺激體內骨骼組織生長者爲佳[4]。而開發 此等材料的先決條件,就是對生物礦化的機理在 分子尺度上有深入認識。以下我們會討論數個有 關生物礦化的報告,為大家粗略地介紹此課題目 前的研究慨況。

## 二、化學合成

我們知道蛋白質的酸性基團在生物礦化中



Science 294, 1684 (2001)

具關鍵作用,其中磷酸化的基團又與磷灰石的礦 化有直接關係。化學家一直希望在試管中模擬磷 灰石在膠原纖維上的結晶過程。經不斷努力, Stupp小組最近以兩性肽(polypeptide-amphilphile) 分子合成奈米纖維,在人工體液中成功誘導磷灰 石結晶[5];與生物體的情況一樣,其晶體的 C 軸大致平衡於纖維的主軸。這是科學家首次成功 以人造纖維仿造生物骨骼的最基本結構。

如圖一所示,整個兩性肽分子可分成五部份。Stupp首先以十六個碳原子的烷鏈(alkyl chain)令分子在水溶液中進行自組裝(self-assembly),形成長數微米與直徑約8 nm 的纖維。兩性肽分子的第二部份爲四個連續的半胱胺酸(Cysteine),其中的氫硫基經氧化後形成雙硫鍵,把整個超分子的纖維結構鎖緊。接著的三個甘胺酸(glycine),令纖維表面的分子團具適當的

結構彈性。第四部分是磷絲胺酸(phosphoserine) 與及最後的 Arg-Gly-Asp 序列,目的是仿照生物 體,以磷酸化和酸性基團誘導磷灰石在纖維表面 結晶。

誠如 Stupp 所言,此實驗未能解釋磷灰石在 膠原纖維上結晶的機理,但上述兩性肽分子不啻 是研究生物礦化的上佳模型。我們可改變分子的 胺基酸序列,以測量磷灰石礦化速率與序列的關 係,或以其他化學基團取代胺基酸。

# 三、原子力顯微術

生物礦化與結晶工程學有一重要概念稱爲 「立體化學辨識」(stereochemical recognition), 用以解釋晶體形狀如何受一些稱為晶癖修飾分 子(habit modifier)的改變。一直以來,人們認為 修飾分子的官能基與晶體表面的相互作用具有 立體特異性(stereospecificity),令分子選擇性地 附在某些晶面上,阻礙其增長,從而使晶體外形 出現具特徵性的變異。在最近的一篇研究報告 中,作者以原子力顯微術觀察方解石在不同胺基 酸溶液的結晶過程[6]。圖二 a 是方解石的{104} 晶面,其上的梯階(surface step)清晰可見,梯階 交界形成的上下兩組鈍角和左右兩組銳角都分 別具有滑面對稱(glide plane symmetry);圖二 b 是在 Gly 或 D,L-Asp 溶液中的方解石結晶,左右 的銳角己然曲化,但上下兩組鈍角和相對應的滑 面對稱性依然存在;圖二c與d是方解石分別在 L-Asp 和 D-Asp 溶液中的結晶,令人驚異的是, 不同手性的胺基酸令方解石出現互爲鏡像的晶 癖。作者以理論計算說明 D-Asp 和 L-Asp 與方 解石晶面的結合能相約,但與晶面梯階的結合能 就有相當大的差別。換句話說,具手性的修飾分 子以不對稱的方式改變了晶體梯階的熱力學與 動力學狀態,因而於晶體的宏觀結構上反映了胺 基酸的手性。

以上的結果除了讓我們對立體化學辨識的 涵意有全新的理解外,更為生物學的一個重大問 題——為何生命體中的胺基酸只具單一手性— 一提供了探索的方向。而且,若然我們可從礦物 的晶癖推斷其結晶過程是否曾受單一手性的有 機物影響,我們大可以用這方法去鑑定在星體中 找到的碳酸鹽是否源自生命體。



圖二 解石在不同條件下之結晶體,大小分別為 (a) 3.5×3.5 μm (b) 3×3 μm; (c) & (d) 15×15 μm。圖片摘自 Nature, 411, 775 (2001).



圖三: Statherin 蛋白與磷灰石相互作用示意圖。 圖片摘自 Annu. Rev. Phys. Chem. 54, 531 (2003).

## 四、固態核磁共振

如前所述,我們目前對膠原纖維與生物磷灰 石之間的相互作用所知甚少。研究的主要困難, 在於我們難以用繞射方法或各式顯微技術去測 量磷灰石與膠原蛋白在分子尺度上的相對位 置。過去十年,固態核磁共振光譜學經歷高速的 發展,確立了這技術在非晶態生物系統研究的重 要性。與本文的主旨相關,Drobny 小組研究的 題目,乃是 Statherin 蛋白如何抑制磷酸鈣在唾液 中結晶[7]。方法是在 Statherin 特定的胺基進行 碳十三與氮十五同位素標籤,將 Statherin 蛋白附 在 磷 灰 石 後 便 以 固 態 核 磁 共 振 技 術 測 量 Statherin 的結構。結果顯示, Statherin 的 N-端從 第二至第十二個胺基(pSpSEEKFLRRIG)在磷灰 石表面都具有螺旋狀的二級結構。值得注意的 是,樣品經冷凍乾燥處理後,在 Statherin N-端的 六個胺基便失去原有的螺旋狀結構,顯示水份子 在體系的穩定性中擔當著重要角色。此外,核磁 弛豫的數據表明是 N-端的兩個磷絲胺酸把 Statherin 錨定在磷灰石表面。剛才提及的螺旋結 構則具有相當的動性,作用是使 Statherin 更有效 地阻止在溶液中的磷酸根接近其錨定的磷灰 石,從而令晶體無法進一步增長,圖三所示的模 型就是實驗的總結。

原則上我們能以固態核磁共振測量整個 Statherin 的二級結構與及磷絲胺酸在磷灰石表 面的空間構形,此先驅性的實驗無疑爲研究生物 礦化確立了一個十分有效的分析方法。

### 五、結論

生物礦化同時為多個研究領域的重要課題,以上我們刻意挑選了三個以截然不同的角度 探討生物礦化的基礎研究,以介紹此課題的多面 性與豐富內涵。事實上,著名的 Gordon Research Conference 已定期以生物礦化、生物材料、骨骼 牙齒、膠原蛋白為會議主題。目前科學界對生物 礦化的機理在分子尺度上所知甚少,關於生物體 如何以蛋白質控制無機物的結晶行為,現今仍然 是一個謎。展望未來,生物礦化不但是極有潛力 的基礎科研題目,在應用上亦可大幅提高生物材 料的質量,並爲奈米材料的開發帶來源源不絕的 靈感。

### 參考文獻

- S. V. Dorozhkin and M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 3130 (2002).
- [2] H. A. Lowenstam and S. Weiner, Biomineralization, Oxford University Press, New York, (1989).
- [3] S. Mann, J. Webb, and R.J.P. Williams (Eds.), Biomineralization: Chemical and Biochemical Perspectives, *VCH Publishers*, New York, (1989).
- [4] L. L. Hench and J. M. Polak, Science, 295, 1014 (2002).
- [5] J. D. Hartgerink, E. Beniash and S. I. Stupp, *Science*, **294**, 1684 (2001).
- [6] C. A. Orme, A. Noy, A. Wierzbicki, M. T. McBride, M. Grantham, H. H. Teng, P. M. Dove and J. J. DeYoreo, *Nature*, **411**, 775 (2001).
- [7] G. P. Drobny, J. R. Long, T. Karlsson, W. Shwa, J. Popham, N. Oyler, P. Bower, J. Stringer, D. Gregory, M. Mehta and P. S. Stayton, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **54**, 531 (2003).