

生物纳米材料的进展与前景*

崔大祥 高华建

(马普金属研究所生物纳米工程中心 德国 斯图加特 70569)

摘要 在过去几年中,生物纳米材料的理论与实验研究已成为人们关注的焦点,特别是核酸与蛋白质的生化、生物物理、生物力学、热力学与电磁学特征及其智能复合材料已成为生命科学与材料科学的交叉前沿。目前,纳米生物芯片材料、仿生材料、纳米马达、纳米复合材料、界面生物材料、纳米传感器与药物传递系统等方面已取得很大进展。本文主要对这些材料的研究、开发及应用情况进行了综述,并探讨了生物纳米材料的发展前景。

关键词 生物纳米材料,生物化学,生物物理,生物力学,生物电磁学,热力学,分子马达,纳米技术

1 前言

很多生物现象发生在纳米水平。核酸与蛋白质是执行生命功能的重要纳米成分,是最好的天然生物纳米材料^[1]。这些成分相互作用编织了一个复杂的、完美的生物世界。生



物纳米材料研究,不仅涉及基因与蛋白质的结构与功能,包括它们的识别、结合、相变、特殊因子的释放、生物电化学信号的产生与传导、生物力学与热力学特性,而且还涉及新技术工具的发展。生物纳米材料可分为4类:(1)天然纳米材料;(2)生物仿生与人工合成的纳米材料;(3)智能纳米复合材料;(4)合成的纳米材料与活细胞形成的复合材料或组织工程纳米材料。尽管很多根本问题仍然不清楚,但是带有生物与纳米特征的新材料研究与开发已取得很大进展。

2 生物纳米材料的进展

现代材料科学在亚微米与纳米水平的合成与控制方面不断取得进展,使得制造具有一定特性的功能材料成为可能。在纳米水平,生物材料展现出新的特性。材料科学与生物学之间的交叉领域已成为新的研究前沿。

2.1 生物芯片材料

生物芯片是一个正在发展中的技术,对遗传诊断、药物发现及基础研究等方面具有重大影响,它的发展取决于生物纳米材料。它的主要进展包括两方面:一方面是纳米复合材料在生物芯片制备方面的应用,增强核酸、蛋白质与片基之间静态与动态的粘附力,促进小型化、高分辨率与多功能。目前,采用化学沉积方法可在芯片片基界面制备0.4—2 μm 的分子单层,也可制备0.4—2nm的由顶层、多孔渗水层与底层组成的多功能层。利用场控制的自组织技术可制备自动寻址的芯片界面材料。一个新研制的丸状芯片上的实验室装置(由纳米材料构建的微流系统组成)只需5nl核酸样品,即可诊断疾病。另一方面,生物芯片已拓宽它的应用范围,如植物药有效成分的高通量筛选,癌症等的临床疾病诊断,作为细胞内部信号的传感器。结合微电子磁技术,生物芯片已应用于单细胞分离、单基因突变分析、基因扩增与免疫分析。电场作用下自动寻址的细胞芯片也研制成功,既可用于基因功能研究与蛋白质亚细胞定位,又可用于监测基因与蛋白质的瞬间表达^[2]。

2.2 纳米生物仿生材料

纳米仿生材料的研究集中在力学形变、微结构与功能方面。阐明生物纳米材料的生化过程、力学形变与运动规律有助于生物仿生材料的设计与制造。例如,坚果壳的结构无论从生物学或材料科学

* 收稿日期:2002年12月9日

的角度看都是非常有趣的。它们的形状结合了最好的材料特性 (ρ : 1.2—1.4 mg/m³; Young's modulus E: 1.5—5 GPa; fracture strength σ_f : 150—340 MPa; Mohr's Hardness: 2.5—5.0)。在功能方面,既能保护种子对抗外界的破坏,同时又能确保种子在发芽期间可从壳内出来。在工业上,坚果壳作为软的抗摩擦物质,用于清洁精确部件。进一步研究表明,这是由于其内部存在 10—20nm 直径的草酸钙盐的单层分子结晶。这种生物矿化层的功能可能是:(1)储存大量的钙,满足细胞囊的要求;(2)增强组织的力学性能,对抗外界的破坏侵袭力。坚果壳提供了过量储层钙与周期性间隔处理钙的有效机制,在仿生材料设计方面具有应用前景。

蜘蛛是一个制造丝蛋白的家族。这种丝经历了数千年的进化,其结构已被优化修饰。这种丝具有平衡的硬度、强度与延展性,已被用作原子力学显微镜的探针。重组的蜘蛛丝已被用作纺纱纤维。丝纤维的生物仿生矿化过程已被用于制造特殊功能的生物复合材料。

磁性细菌能够控制磁铁的生物矿化过程。每个生物磁性分子被包裹一层膜,并排列成链状,在细胞内形成磁极。磁性粒子的直径在 50—100nm 范围,每个细胞内有 10 个左右磁性分子。这些生物磁性分子有单个磁极,在液体中有超级弥散特性,可被用于免疫分析或诊断芯片。

在软体动物的损伤修复期间,其组织再生涉及到壳生物材料的沉积。首先,形成一个有机层。这个有机层由交叉连接的纤维组成,并形成 33nm 间隔的明暗带。接着,球粒结构的矿物质植入有机层,矿化过程发生。这表明有机层起着矿化形成的底物作用。这一过程对功能材料的制备非常有意义。

昆虫的粘附系统由生物纳米材料组成。该系统的摩擦特性与材料的结构及性质有关。由于由很多纳米颗粒组成,导致粘附摩擦力成几何级数增加,所以,昆虫能够在玻璃等物上粘附住,而不掉下来。生物陶瓷与聚合体材料的特性,通过不同排列方式植入纤维而得以优化其力学性能并修饰其结构。

2.3 生物纳米马达

生物马达分子也称作纳米机器。它们在肌肉收缩,细胞移动、分化,囊泡转运,信号转导,DNA 复

制、卷曲与翻译方面起着重要作用^[3]。马达分子主要分为 actin 网络、kinesin 与 dynein 超家族和与 DNA 相互作用的蛋白质。通过 ATP 水解,化学能被转化为机械能,导致马达分子构像发生改变,引起马达分子运动。人们已经详细研究了这些马达的详细结构与它们的运动轨迹,但是马达分子的生物力学机制仍然不太清楚。在此领域进行研究有助于纳米装置动力的发展。

2.3.1 actin 网络

actin 网络在细胞运动中起协同作用。actin 结合蛋白的结构与它们在细胞运动期间对细胞骨架的调节作用已有很多研究。研究证实了细胞的力学行为具有惊人的抗突变能力。3 个 actin 调节蛋白被敲除,并不改变细胞形状及细胞运动等表现型行为。这种现象可以用弹性原理来解释,因为交联部分的敲除使得 actin 网络软化可通过 F-actin 功能增强与整体体积减少来补偿。

2.3.2 Kinesin 马达

Kinesin 是一个线状的两个头的马达,通过在细胞内沿着微管移动囊泡而发挥转运作用。Kinesin 的每个头由一个带有 ATP 结合结构域的重链与带有运动囊泡的轻链组成。两个轻链形成卷曲螺旋的劲部区域。Kinesin 分子沿着微管每移动一步,距离是 8nm(两个 tubulin 亚单位之间的距离),同时消耗一个 ATP 分子水解提供的能量。大约 5—7 pN 的机械力可阻止 kinesin 分子的移动。Kinesin 的运动率随着应用负荷的增加而呈线性减少。Kinesin 的两个 tubulin 结合区域正常隔开约 5nm,要取得超过 8nm 的距离,其构像必须有大的改变。Kinesin 劲部的绞链区域一旦与 ATP 结合,即可出现构像改变,协助一个头粘附于微管,另一个头在 ATP 水解能量的驱动下,向前移动 16nm。但是不清楚 kinesin 的 8nm 的力学距离产生的机制以及劲部绞链构像改变与 ATP 水解释放焦磷酸相联结的机制。

2.3.3 Myosin 马达

Myosin II 是一个两头线性马达,在骨骼与平滑肌内部的 actin 与 myosin 细丝之间产生滑动。在任一时间,只有一个头粘附到 actin。每个 myosin 头由一个球形马达结构域与一个长的杠杆臂结构域组成。ATP 水解导致化学能转化为力学能,使杠杆臂

摆动。早期报道 myosin 平均每次滑动的移动距离是 11nm,产生的力大约为 4 pN。但是,目前研究证实骨骼肌 myosin 移动距离只有 4nm,平滑肌 myosin 移动距离只有 7nm。这 4—11nm 的每步距离与 myosin 工作行程相关。在 actin 细丝上的两个连续的 myosin 结合位点之间的间隔是 36nm,预示多个 myosin 分子必须协同工作,才能实现沿着 actin 持续移动。实际效果是肌肉收缩与细胞移动。但是一个 ATP 水解涉及多少个步骤,产生多大的力,myosin 构像的改变怎样与 ATP 水解及与 actin 结合仍然不清楚。

2.3.4 ATP 合成酶

ATP 合成酶是世界上最小的马达蛋白,包括一个跨膜成分 F₀,构成质子通道;一个可溶性成分, F₁-ATPase,包含催化位点。ATP 合成酶既能利用 ATP 水解对抗电化学梯度,泵质子穿过生物膜,又能利用来自跨膜质子梯度的能量(利用 ADP 与焦磷酸)合成 ATP^[4]。实验证实,当 ATP 被加时,每步每个 ATP 分子水解可使 F₁-ATPase 旋转 120°。ATP 合成酶通过 F₁ 成分中的 β-结构域构像改变来完成酶的合成与水解循环周期。蛋白质构像的变化是利用 ATP 的自由能产生力学转矩的关键机制,或者利用质子移动力产生转矩以合成 ATP。

2.3.5 DNA 与蛋白质相互作用的马达分子

纳米马达也能以与 DNA 结合的单个蛋白分子形式存在。例如,细胞中 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶及拓扑异构酶是参与基因转录、复制与 DNA 卷曲的马达分子。一些 RNA 聚合酶以每秒 10 多个核苷酸的速度合成模板 DNA 的 RNA 拷贝。T7 DNA 聚合酶以每秒高于 100 碱基的速度复制 DNA。到目前为止,已发现 8 种 DNA 与蛋白质之间相互作用的基序,即 Helix-Turn-Helix, Zinc Finger, Beta-Rib, L-zip, Enzyme, Beta-Barrel, Helix-Loop-Helix, HMG Box, BHLH-Z。

目前关于 DNA 复制与转录的机制研究已部分地集中在纳米马达的分子机制方面。Optical tweezer 已被用于测量马达分子与 DNA 之间的相互作用力。例如,在饱和的 dNTP 浓度条件下, E. coli RNA 聚合酶在外加力为 14—25 pN 时可使转录停止,而且随着力的增加,转录速度降低。实验表

明, T7 DNA 聚合酶沿着单链 DNA 模板移动时对 DNA 链的张力非常敏感。DNA 扭转力似乎通过拓扑异构酶影响 DNA 超螺旋的松弛。阐明生物马达分子的力学化学相互转变的机制可用于功能性纳米装置的设计与制造。

2.4 核酸与蛋白质材料

核酸包括 DNA 与 RNA。DNA 是一个直径为 3.4 nm 的双螺旋双链。DNA 是构建大分子的最佳材料。因为它易合成,具有高度特异性与柔韧性。DNA 碱基互补配对特性已被用于制造 2- 维晶体、DNA 计算机与电子线路原型。DNA 不仅可形成双链二级结构,而且也可形成三级、四级,甚至更高级的结构。

DNA 分子的力学研究也取得了进展。在不同的拉力下 DNA 至少出现 4 种形变,其规律为:(1) 熵-弹性形变;(2) 虫样链;(3) 外周笼廓伸展;(4) B-DNA 向 S-DNA 相变。

DNA 分子的不同构像可用于 DNA 马达的设计。例如,一个人造的 DNA 纳米马达采用了分子内部结构与分子间的结构,通过两种构像之间的快速转化,使得纳米马达能完成虫样的延伸与收缩运动。它的简单的稳定结构、方便的操作与高效率,使得 DNA 纳米马达具有为纳米装置提供动力的潜力。

蛋白质是制备纳米机器的天然材料。蛋白质构建的分子机器,在细胞中大量存在。肽分子在液体中经过自组织程序,可形成纳米水平的超分子结构,如胶态离子、囊泡、单向膜与微管等。这些自组织体可满足不同的纳米工程材料的需求。蛋白质识别与结合结构域的研究,揭示了带有特殊化学键的蛋白分子结构可提供靶分子的选择性识别区域。因为蛋白质是氨基酸的异源聚合物,化学残基的适当配对与定位能够制造出具有特殊识别能力的人造大分子。通过分析结合蛋白,科学家已成功地设计出特异性识别并结合生物分子的仿生材料。在这些材料当中,DNA 分支的 motifs 用作纳米装置联接与排列组合的成分。例如,用肽作原料的聚合物可利用已发现的 motifs 来设计。与亲水性聚合物连接后,这些肽能保持生物活性。这些肽不仅可改变纤维蛋白的力学特性,而且提供了自组织网络形成的

新机制。进一步讲,这些材料能够被设计带有生理性的有关酶降解位点,能够支持生物活性因子如粘附分子、生长因子及细胞外基质蛋白。肽可通过合成办法拥有两性分子自组织特性与肽主要侧链自组织特性。这使得界面被自组织,以可控制方式实现生物功能。例如,抗原抗体可利用 lift-off 技术来产生 575 nm 以下的一致性界面。此技术具有很高的分辨率,与免疫学定位方法结合,可用于研究细胞功能,如受体凝集、信号转导、分子弥散、细胞之间相互作用等。

2.5 生物纳米传感器

生物系统拥有一些独特的能力,如控制晶体结构、相的方向与对无机材料纳米结构的调节,识别与材料特异结合的蛋白,如半导体 Wafers、半导体与磁性纳米粒子、碳纳米管与传导性聚合物。生物分子固有的自组织、高选择特性可被用于制造纳米传感器。例如,在特殊结构的硅极性表面产生电荷,可以模拟生物离子通道。直径在 0.2—2nm,长度在 1—2nm 的生物离子通道具有高度的离子选择性,离子通道开合状态之间可快速切换,并可被一些离子抑制。因此,生物离子通道在生物传感器、分子开关、分子装置、纳米反应器等具有潜在的应用价值。如,温度敏感蛋白 TlpA 是从伤寒杆菌中提取出来的蛋白,对温度变化特别敏感,具有快速的变性-复性周期,能被用于制造基于温度变化基础上的装置,可用于探测温度变化及信号转导。

2.6 生物兼容性界面材料

很多纳米材料,如纳米粒子、纳米管、核酸、纳米多肽等具有巨大的临床应用潜力。纳米材料在临床应用的一个主要问题是这些材料能否被机体免疫系统接受。到目前为止,我们对纳米材料与免疫细胞之间的相互作用了解很少。随着越来越多的纳米设备被制造,从根本上理解纳米材料与免疫网络之间的相互作用显得越来越重要。据报道,带有 18nm 直径孔的生物膜能够保护被包裹的细胞或组织避开机体免疫反应^[5]。这种现象对特殊的纳米材料设计制造具有潜在的指导意义。

生物兼容性意指控制与生物组织相接触的材料行为的一系列复杂的理化与生物学反应过程。包括生物材料的表面化学与形态特征以及吸收浆蛋

白的图像。构建生物兼容性表面非常重要,其方法主要有 soft ionization 方法,如 pulsed plasma and hot filament polymerization,使用这种方法可获取同源性聚合体表面。带有生物兼容性表面的纳米材料可直接用于制造临床纳米装置及用作组织工程材料。例如,水凝胶基础上的自组织肽拥有唯一的纳米与微米形态,已用作组织工程支架。生物降解的聚乳酸支架可用作骨的替代物。蜂房胶原结构是一个极好的三维的生物降解材料。一个生物降解性聚合物(如 BMP2)递送系统已被用于促进骨形成。

2.7 纳米药物递送系统

基因治疗是一种具有很好前景的肿瘤与遗传疾病治疗方法。传统的病毒载体在应用中存在严重的副作用,如引起强烈的免疫排斥反应,故其发展已受到限制。采用纳米材料作为基因传递系统具有显著优势。目前已有如下三种纳米载体:chitosan,一个生物降解性的几丁质衍生物,具有低毒、极好的生物兼容和易于化学修饰等特性,已作为 DNA 递送系统。chitosan/DNA 复合物可在细胞核中聚积。chitosan 基础上的基因转移已经增强了蛋白表达水平,但此技术似乎对细胞类型具选择性。

LDH (layered double hydroxide) 是另外一种 DNA 递送系统。带负电荷的生物分子-DNA 片段通过简单的离子交换,能够被稳定地导入 LDH 双层中间。LDH 能够保护 DNA 不被降解,电荷中性可增强 DNA-LDH 杂交体经过细胞内吞作用进入细胞。细胞内的酸性溶酶体溶解 LDH,并暴露出内部靶分子。

另一个系统是 dendrimers-tree-shaped 合成分子,可通过免疫防御系统将 DNA 导入靶细胞,可用作基因或疫苗的载体。总之,纳米水平的药物或基因递送系统具有很好的应用前景。

2.8 研究工具与技术的进展

最近十年,纳米材料研究工具已取得很大进展。除了 AFM、SEM 与 STM 外,新的或改进的研究工具也已出现,如超低温电镜、质谱仪、能量滤过透射电镜、纳米水平蚀刻技术、荧光反射显微镜、激光捕获单分子技术、飞秒动力 X 衍射、optical tweezer 等。原位与原位外的实验方法已用于获取生物材料的结构信息,如 3D 结构,表面形态与动力学等。

分子印刷是一项重要技术,已用于受体与催化位点的小有机分子铰链网络的合成,在有机底物上产生结合与催化位点。此技术已有效地模仿天然的抗体与酶。在过去的几年中,分子之间的弱相互作用已引起材料科学家的注意,并已应用到纳米材料的合成中。

纳米力学的测量也经历了快速发展。具有 nN 分辨率的微型机器已能测量活细胞的亚细胞力学分布,也可测量细胞单个粘附位点所产生的力。Optical Tweezer 已被用于探测和描绘单个分子的运动。分子动力学模拟在纳米材料研究方面具有较高价值。这类研究将有助于阐明生物分子的根本力学机制,为生物纳米材料的设计与制造奠定基础。

3 生物纳米材料的发展前景

生物纳米材料科学已展示出激动人心的前景。此领域最终目标是在纳米水平制造功能性生物材料。探索生物纳米材料可以更好地理解生命科学与材料科学交叉领域的根本原理。这些原理可用于设计与制造各种纳米装置。

生物纳米材料已有了巨大的商业市场。生命科学产品在全球创造了每年 1 000 亿美元的利润,据

英国纳米技术研究所统计,目前纳米特征的产品只占总量的 1%,随着生物纳米技术的快速发展,这个百分数在不远的未来将呈指数增长^[6]。研究开发新产品的驱动力日益增强,对生物医学的创新正越来越集中在纳米技术与传统技术的整合方面,在不远的将来,纳米装置将很可能改变我们的生活。

主要参考文献

- 1 Bao G. Mechanics of biomolecules. *J. Mec. Phys.Solids*, 2002, 50(11):2 237-2 274.
- 2 Bouchie A. Microarrays come alive. *Nature*, 2001, 411: 107-110.
- 3 Howard J. Molecular motors: structural adaptations to cellular functions. *Nature*, 1997, 389:561-567.
- 4 Noji H, Yasuda R, Yoshida M, Kinosita K. Direct observation of the rotation of F1-ATPase. *Nature*, 1997, 386: 299-302.
- 5 Desai A, Hansford D, Ferrari M. Nanoscale member synthesis and immuno component isolation. *Journal of membrane Science*, 1999, 159:221-231.
- 6 Stark H. Biological nanotechnology. *Second EuroBiochips Conference*, 2002, 30-34.

Advance and Prospect of Bio-Nano-Materials

Daxiang Cui Hujian Gao

(Bio-Nano-Engineering Center of Max Planck Institute, D-70569 Stuttgart, Germany)

Over the last few years, bio-nano-material science has emerged as a new exciting field in which theoretical and experimental studies of bio-nano-materials have become a focus, and the importance of nucleic acids and protein as bio-nano-materials to the fundamental development in biology and nanomaterials has begun to be recognized. In particular, biochemistry, biophysics, biomechanics, thermodynamics and electronic magnetic properties of nucleic acids and proteins as well as intelligent composite biological materials have become a new interdisciplinary frontier in life science and material science. There is an increasing need for a more systematic study of the basic issues involved in bio-nano-materials. Great advances have been made in nano-biochip materials, nanoscale biomimetic materials, nano-motor, nano-composite materials, interface biomaterials, nano-biosensor and nano-drug delivery systems. Here we review the main advances in this field and explore the application prospects.

Keywords bio-nano-materials, biochemistry, biophysics, biomechanics, thermodynamics, electronic magnetic, molecule-motor, nano-technology

崔大祥 德国马普金属研究所生物纳米工程中心生物材料组组长,目前正与我院有关单位就生物纳米材料的开发工作进行合作。1967年出生于安徽。1990年在第二军医大学获医学学士学位,1998年在第四军医大学获生化与分子生物学专业博士学位,2000年晋升为副教授。研究领域是生物纳米材料与装置,生物芯片与蛋白结构及功能。发表论文40余篇,被邀请在国际学术会议上报告1次,获专利2项。

高华建 男,德国马普金属研究所所长。1962年出生于四川。曾任斯坦福大学计算与力学系教授,斯图加特大学化学系教授。