

# 珍珠层中的蛋白质及其与碳酸钙相互作用研究进展\*

## A Review of Proteins in Nacre and Their Interaction with Calcium Carbonate

张刚生 李浩璇 陈益兰

Zhang Gangsheng Li Haoxuan Cheng Yilan

(广西大学化学化工学院 南宁市西乡塘路 10号 530004)

(College of Chemistry and Chemistry Engineering, Guangxi University,  
10 Xixiangtanglu, Nanning, Guangxi, 530004, China)

**摘要** 近年来对珍珠层中蛋白质及蛋白质对碳酸钙结晶控制作用的研究得出珍珠层中含各种各样的功能蛋白质,不同种类动物形成的珍珠层中所含的主要蛋白质种类不同,它们各自拥有自己的结构和功能。蛋白质对珍珠层中无机相的成核、结晶、形貌等的控制作用明显存在,但是,目前体外的仿生矿化实验不能复制珍珠层中无机相的形貌,这种控制作用的详细机理仍不清楚,人们对其认识还处于初步的阶段。

**关键词** 珍珠层 蛋白质 碳酸钙

中图法分类号 Q501

**Abstract** The published researches on proteins in nacre and the control of nucleation of calcium carbonate by the nacre proteins obtain lots achievements recently. There are many different functional proteins found in nacre. The key proteins in function and structure are different in the nacres from different animals. The control of nucleation, growth, morphology of calcium carbonate in nacre by the proteins are obvious, but the biomimetic mineralization in vitro could not reproduce inorganic phase morphology of nacre nowadays. The control mechanism of calcium carbonate by proteins in nacre is still not clear.

**Key words** nacre, protein, calcium carbonate

人们需要不断开发新的、高性能的材料来满足日新月异的各种高新技术需要。仿生材料工程是开发新材料最重要的手段之一<sup>[1,2]</sup>,而仿生材料工程中最关键的步骤是对各种天然材料形成机理的了解。在众多的天然生物材料中,珍珠层由于具有独特的结构和力学性能而倍受材料学家的重视。珍珠层是一种天然的纳米无机-有机层状生物复合材料,它是由脆性的无机相文石(呈板片状,粒径 $1\sim 10\mu\text{m}$ ,厚 $0.3\sim 0.8\mu\text{m}$ )和少量有机质(一般小于 $3\% \text{ w t}$ )组成<sup>[3]</sup>,板片状文石呈定向排列,其结晶学C轴皆垂直珍珠层面。珍珠层材料最大的特征是高的抗破裂韧性<sup>[4,5]</sup>。因此,对珍珠层微结构及形成机理的研究可为合成高性能的材料提供新的思路和方法。目前普遍认为珍珠层是受软体动物外套膜分泌的有机质调控而形成的,即珍

珠层中文石的成核结晶、晶体形貌、多型及晶体结晶学定向等是受有机质控制的<sup>[6-8]</sup>。虽然有机质对珍珠层形成的重要性已经得到普遍共识,但目前关于珍珠层中有机大分子对珍珠层形成的详细的控制作用仍存在争议,对其了解也是处于初步的阶段。

### 1 珍珠层中的有机大分子

对珍珠层中有机质的结构和功能的研究可分为3个阶段:早期的大量文献主要研究珍珠层中有机质的微观形貌特征<sup>[9]</sup>、蛋白质的氨基酸组成等<sup>[10]</sup>,未对蛋白质完整结构及性质进行研究;第二阶段是对珍珠层中蛋白质混合物的生物化学研究阶段,开拓者是美国的 Greenshow,他采用弱酸去钙化后获得了珍珠层中较完整的有机大分子<sup>[11]</sup>。以后大量有关珍珠层中有机质的研究揭示了一些普遍规律:珍珠层中的有机质主要为蛋白质,分为水可溶蛋白质(SM)和水不可溶蛋白质(IM),SM一般为酸性糖蛋白,亲水;IM

2002-05-15收稿

\* 广西大学博士启动基金资助

为偏碱性,疏水。SM具有抑制碳酸钙结晶的特征。其中最值得一提的是以色列 Weizmann研究所 Weiner小组的研究<sup>[12]</sup>,它们首次用 X射线分析证实珍珠层中的蛋白质具有反β-叠片结构,并提出珍珠层形成的模板理论。然而该期间对珍珠层中蛋白质的研究由于技术的原因一般是对蛋白质混合物进行研究,对其中单组分及其中的氨基酸序列的测定文献极少。第三阶段为分子生物学研究阶段,1996年日本 Kinki大学的 Miyamoto<sup>[13]</sup>首次采用现代分子生物学研究方法获得珍珠层中完整结构的蛋白质序列,首次对蛋白质的一级结构进行了系统的研究。其后出现了大量运用相似方法的论文,为在分子水平上了解珍珠层的形成机理提供了基础。

### 1.1 珍珠层中蛋白质的一级结构

表 1 列出从不同种类贝壳珍珠层中采用现代分子生物学技术方法获得的几类单组分蛋白质(其中仅 Perlucin采用酶劈裂方法获得一级结构,所列的所有表 1 不同动物种类贝壳珍珠层中主要的单组分蛋白质的基本特征

**Table 1 Basic features of purified proteins in nacre of different kinds of mollusk shells**

动物种类 Animal	蛋白质 Protein	分子量 Molecular weight (KDa)	氨基酸残基数 Number of residues of amino acids	基本特征 Basic feature	文献 Reference
马氏珠母贝 <i>Pinctada fucata</i>	Nacrein	60	447	2个 CA域, 中夹 1个 Gly-Xaa-Asn重复域 (Xaa= Asp, Asn或 Glu), 具 CA活性。 Two CA domains with one Gly-Xaa-Asn domain between them, and active.	[13]
大珠母贝 <i>Pinctada maxima</i>	N66	66	568	富含 Asn和 Gly, 结构类似 nacrein。 Enriched in Asn and Gly amino acids. Residues with sequence are similar to nacrein.	[14]
大珠母贝 <i>Pinctada maxima</i>	N14	14	140	富含 Gly, Tyr和 Asn, 中夹 2个特定的 Asn~ Gly重复域, 结构类似 N16。 Enriched in Gly, Tyr and Asn with two peculiar Asn-Gly repeat domains, similar to sequence of protein N16.	[14]
绿唇鲍 <i>Haliotis laevigata</i>	Perlucin	17	155	主要含一个功能 C型-lectin域, 中含 6个保守的 Cys残基, 具专一性碳水化合物键接能力。 There is a functional C-type lectin domain with six of Cys residues, and carbohydrate-binding specificity.	[15, 16]
裂江珧 <i>Pinna nobilis</i>	Mucoperlin	66.7	636	富含 Ser和 Pro, 一级结构中 存在 13个连续的富含 Ser的重复域, 属粘蛋白类。 Enriched in Ser and Pro. There are 13 repeated domains containing Ser in the primary structure, belong to mucin-like protein.	[17]
红鲍 <i>Haliotis rufescens</i>	Lustrin A	116	1428	多功能骨架蛋白质, 具分子延展器及蛋白酶抑制剂等功能。 Multifunctional framework protein with some function as an extensor molecule and a protease inhibitor.	[18]
马氏珠母贝 <i>Pinctada fucata</i>	MSI60	60	738	13个聚(富)-Ala域和 39个富(聚)-Gly的域, 可能具结晶的反平行β-叠片结构。 There are 13 poly-Ala and 39 poly-Gly domains, and maybe exist as an antiparallelβ-sheet conformation.	[19]
马氏珠母贝 <i>Pinctada fucata</i>	N16	16	129~ 131	富含 Gly, Tyr, Asn和 Cys, 存在 Asn~ Gly重复域。 Enriched in Gly, Tyr, Asn and Cys. There are Asn-Gly repeat domains.	[20]

动物的贝壳均具典型的方解石棱柱层+文石珍珠层结构)。从表 1中可以看出,不同种类动物形成的珍珠层中所含的主要蛋白质均有各自独有的结构和功能。

Nacrein 是最早采用分子生物学方法从马氏珠母贝珍珠层中得到的较完整的水可溶蛋白质,具有 CA活性,可催化以下反应:  $H_2O + CO_2 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+$ , 因此, nacrein可以为贝壳的形成提供碳酸根离子,其酸性域可键接  $Ca^{2+}$ 。nacrein可能对珍珠层的形成起重要作用<sup>[13]</sup>。

Perlucin是在绿唇鲍 (*Haliotis laevigata*) 珍珠层中发现的,较独特的一类新的水可溶蛋白质,属糖蛋白质类, Lectin域结构与许多生物中的去唾液酸糖蛋白受体的碳水化合物识别域有 35%~40% 的序列相同。该类蛋白质拥有二价阳离子(如  $Ca^{2+}$ ) 依赖的专一性结合 D-半乳糖和 D-甘露糖的能力,表明它是 C型 lectin家族的一员<sup>[15,16]</sup>。

Mucoperlin是从裂江珧 (*Pinna nobilis*) 珍珠层中提取的一类具独特结构和功能的单组分蛋白质,其最大的特点是富含 Ser 及 Pro。Mucoperlin 的一级结构的最大特点是含一个衔接重复域,该域含 13 个重复单位,每个重复单位含 31 个氨基酸残基,其中有 12 个氨基酸残基序列 (5 个为 Ser) 在所有重复单位中是不变的,衔接重复域中含较多 O 糖化位置。这些一级结构特征表明它属于粘蛋白质类,具有刚性、杆状的构型<sup>[17]</sup>。

Lustrine A 由以下几个域组成 (依次从 N 端至 C 端): 10 个高度保守的富 Cys 域 (C 域) 和 8 个富 Pro 域 (P 域) 相间排列, 1 个 GS 域 (富 Gly 和 Ser), 1 个碱性域和 1 个 C 端域, 其中 C 端域序列明显类似于已知的蛋白酶抑制剂。Lustrine A 是 1 个典型的多功能型骨架蛋白质, 其 GS 域具有塑性功能, 使大分子具延展性, 赋予珍珠层优异的力学性能; C 端域富 Cys 残基, 该域通过双硫键可控制蛋白质分子内及之间的自组装; 碱性域可与其它含阴离子的大分子 (如酸性 SM) 相互作用; C 端域为类蛋白酶抑制剂的域, 可保护壳中的蛋白质组分免遭降解<sup>[18]</sup>。

MSI60 为珍珠层中的水不可溶蛋白质, 其一级结构最大特点是类似丝蛋白的特征, 其中的聚 (富) -Ala 域可能导致 MSI60 形成致密堆积的  $\beta$ -叠片晶体<sup>[19]</sup>。MSI60 蛋白质中的 39 个富 (聚) -Gly 域可能参与了结晶的  $\beta$ -叠片的形成。MSI60 中存在聚 -Asx 块可能键接钙离子; 位于 N 和 C 端的 5 个 Cys 残基可能在珍珠层有机片中形成分子间 (和分子内) 的双硫键。

N16 为马氏珠母贝珍珠层中水不可溶蛋白质 (IM) 中的弱碱 ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 可溶部分, 它不是 1 个单组分蛋白质的名称, 而是 3 个氨基酸序列几乎相同的蛋白质混合物的总称。N16 的主要特征是具酸性, 亲水, 等电点  $IP$  为 4.8~5.1, 富含 Gly, Tyr, Asn 和 Cys, 含相对较高的芳香氨基酸残基, 此外含显著的 NG 重复域 (占整个氨基酸残基的 9%~12%)。二级结构分析表明, N16 呈高度的  $\beta$ -螺旋卷结构, 部分呈  $\beta$ -叠片, 少量呈  $\alpha$ -螺旋结构<sup>[20]</sup>。

### 1.2 珍珠层中蛋白质的功能

不同种类动物珍珠层中所含的蛋白质种类复杂多样, 一般具有多功能的特点。从表 1 可以看出, 珍珠层 SM 中主要的单组分蛋白质有: 含 CA 活性的酶蛋白类、C 型凝集素类蛋白质、粘蛋白类等, 一般为酸性蛋白质, 结构中含较多可能的糖化位置; 珍珠层 IM 的单组分蛋白质常含 Cys 氨基酸残基, 便于分子间的相互键接, 含较少或不含可能的糖化位置, 酸

性氨基酸残基的含量明显比 SM 少。虽然不同种类动物壳珍珠层中的主要蛋白质一般具不可比性, 均具独特的特征, 但来自珠母贝属 (*Pinctada*) 的 2 种珠母贝珍珠层中的蛋白质有很大的相似性, 如大珠母贝珍珠层中发现的 N66 与从马氏珠母贝珍珠层中的 Nacrein 结构相似, 均含 2 个 CA 域 (CA 活性位置 97.2% 相同) 和一个酸性重复域 (39% 序列相同), 因而两者属同类蛋白质。而从大珠母贝珍珠层中发现的 N14 与马氏珠母贝珍珠层中的 N16 结构类似 (其酸性区的相似度达 94.1%)。

## 2 蛋白质与碳酸钙相互作用

为了详细了解珍珠层中蛋白质与碳酸钙的相互作用, 人们一般采用体外仿生矿化实验, 即直接利用从贝壳不同碳酸钙多型的壳层中分离出蛋白质进行体外诱导碳酸钙结晶实验, 进而推断生物体内珍珠层的形成机理。

### 2.1 多型控制

从表 2 不同类型的动物壳的仿生矿化实验结果可以看出, 贝壳不同壳层中的蛋白质对碳酸钙多型的控制是相当复杂的, 几乎无规律可言。采用从贝壳中萃取的蛋白质混合物进行体外诱导碳酸钙的结晶实验, 无论 IM 来自棱柱层或是珍珠层, IM 一般只能诱导方解石多型的结晶; 来自珍珠层的 IM+SM 一般能诱导文石多型的结晶; 来自棱柱层 SM 只能诱导方解石结晶, 来自珍珠层的 SM 则可能诱导出纯文石多型<sup>[21]</sup>、方解石+文石及纯方解石的结晶<sup>[22,23]</sup>, 具体多型视贝壳种类的不同而不同。从上面的分析可以看出, 在体外诱导碳酸钙结晶的实验中, 如果没有来自珍珠层的 SM 时, 肯定不能诱导出文石多型的结晶, 但有来自珍珠层的 SM 时不一定能诱导出文石多型的结晶, 因此, 珍珠层的 SM 是控制珍珠层中文石多型形成的必要因素, 但不是充分的因素, IM 是否存在亦有重要的影响。

在饱和碳酸钙溶液中, 关于单组分蛋白质体外诱导碳酸钙结晶的实验研究还处于很初步的阶段。首先从珍珠层 SM 中获得的主要的单组分蛋白质在无其它无机添加剂时未见有能诱导出文石多型结晶的报道。对比 SM 混合物的诱导结晶实验, 可以看出珍珠层中蛋白质对多型的控制是十分复杂的, 即只有 SM 中所有多蛋白质组分的联合作用才能控制珍珠层文石的结晶成核。

### 2.2 晶体形貌控制

采用来自珍珠层的有机质的体外仿生矿化实验诱导的文石的晶形见表 3。部分动物种类的蛋白质能

表 2 饱和碳酸钙溶液中贝壳蛋白质对碳酸钙结晶多型的控制

Table 2 Calcium carbonate polymorph controlled by proteins from mollusk shells in the saturated solution of calcium carbonate

蛋白质种类 Protein	实验结果 Result	文献 Reference
蛋白质混合物 Protein mixtures	a) IM <sub>n</sub> 或 IM <sub>p</sub> 只能诱导方解石的形成; b) SM <sub>n</sub> 诱导文石生长, SM <sub>p</sub> 诱导方解石生长, 即 SM 能单独控制 CaCO <sub>3</sub> 的多型, IM 并不是必需的; c) SM <sub>n</sub> + SM <sub>p</sub> 的混合物诱导文石结晶。 a) IM <sub>n</sub> or IM <sub>p</sub> only induces nucleation of calcite; b) SM <sub>n</sub> induces nucleation of aragonite while SM <sub>p</sub> induces nucleation of calcite, i. e. nucleation of CaCO <sub>3</sub> polymorph could be controlled by SM alone; c) SM <sub>n</sub> + SM <sub>p</sub> could induce aragonite crystal.	[21]
	a) IM (β-几丁质+ 丝蛋白) 与 SM 组合在一起时皆能诱导出与 SM 来源壳层的 CaCO <sub>3</sub> 多型相同的多型; b) 当 IM 中的丝蛋白不存在时, β-几丁质+ SM <sub>n</sub> (或 SM <sub>p</sub> ) 皆只能诱导出方解石多型; c) 无 SM 时, IM 不能诱导出任何晶体生长 (偶而有少量球文石形成)。 a) The combination of IM (β-chitin+ silk fibroin) and SM can induce nucleation of CaCO <sub>3</sub> polymorph which is similar to that from SM; b) β-chitin+ SM <sub>n</sub> (or SM <sub>p</sub> ) could induce nucleation of calcite only in lack of silk fibroin; c) no crystal could be induced (except a few vaterites) by IM when SM is absent.	[24]
	a) IM <sub>n</sub> + SM <sub>n</sub> 时, 能诱导出针状文石的结晶; b) IM <sub>n</sub> 单独存在时, 能诱导出针状文石与块状方解石的结晶; c) 当 SM <sub>n</sub> 单独存在时, 只能诱导出块状方解石的结晶。 a) IM <sub>n</sub> + SM <sub>n</sub> can induce nucleation of needle aragonite; b) nucleation of needle aragonite and block calcite could be induced when IM <sub>n</sub> presents alone; c) only nucleation of block calcite could be induced when SM <sub>n</sub> presents alone.	[23]
	a) SM <sub>n</sub> 能诱导形成少量文石, 但同时有大量方解石结晶; b) 其它情况, 如 IM <sub>n</sub> (或 IM <sub>p</sub> )、IM <sub>n</sub> (或 IM <sub>p</sub> ) + SM <sub>n</sub> (SM <sub>p</sub> )、SM <sub>p</sub> 都只能诱导方解石的结晶。 a) SM <sub>n</sub> could induce nucleation of a few aragonite, but produce large amount of calcite at the same time; b) IM <sub>n</sub> (or IM <sub>p</sub> )、IM <sub>n</sub> (or IM <sub>p</sub> ) + SM <sub>n</sub> (SM <sub>p</sub> )、SM <sub>p</sub> only induce nucleation of calcite.	[22]
单组分蛋白质 Purified protein	SM <sub>n</sub> 中获得的单组分蛋白质在无其它无机添加剂时未见有能诱导出文石多型结晶的报道。 No aragonite is induced by the protein purified from SM <sub>n</sub> when there is no other inorganic additives.	[14, 16, 20]

注: SM, IM 分别表示水可溶蛋白质和水不可溶蛋白质, 下标 p 表示对应的蛋白质来自贝壳棱柱层, 下标 n 表示对应的蛋白质来自珍珠层。

Notes: SM and IM represent water soluble and water insoluble proteins respectively; subscript p represents proteins extracted from prismatic layers of shell, and subscript n represents proteins extracted from nacreous layers of shell.

表 3 饱和碳酸钙溶液中珍珠层的蛋白质对文石结晶形貌的控制

Table 3 Aragonite morphology controlled by proteins from nacre in the saturated solution of calcium carbonate

蛋白质来源 Source of proteins	实验结果 Result	文献 Reference
马氏珠母贝 <i>Pinctada fucata</i>	N16 单独存在, 形成针形和球形文石, 与 IM 共同作用时, 形成结晶学一致定向的椭圆、六边形平板状文石 (溶液中添加 MgCl <sub>2</sub> 组分)。 The needle and spherulitic aragonite could be induced by N16 alone, but the highly oriented elliptical or hexagonal tabular aragonite (when MgCl <sub>2</sub> is added into solution) is induced by both N16 and IM.	[20]
红鲍 <i>Haliotis rufescens</i>	SM <sub>n</sub> 单独诱导针形文石晶形, SM <sub>n</sub> + SM <sub>p</sub> 共同作用诱导板片状文石结晶 (10 <sup>μ</sup> m)。 Needle aragonite could be induced by SM <sub>n</sub> alone, and tabular aragonite (10 <sup>μ</sup> m) induced by SM <sub>n</sub> + SM <sub>p</sub> .	[21]
江珧 <i>Atrina rigida</i>	IM+ SM <sub>n</sub> 形成椭圆状文石 (100~300 <sup>μ</sup> m)。 Elliptical aragonite (100~300 <sup>μ</sup> m) could be induced by IM+ SM <sub>n</sub> .	[24]
大珠母贝 <i>Pinctada maxima</i>	N66+ N14+ IM <sub>n</sub> 形成板片状文石 (溶液中添加 MgCl <sub>2</sub> 组分)。 Tabular aragonite could be induced by N66+ N14+ IM <sub>n</sub> (when MgCl <sub>2</sub> has been added into solution).	[14]
贻贝 <i>Mytilus edulis</i>	SM <sub>n</sub> 形成椭球体状文石 (30~60 nm)。 Spheroidal aragonite could be induced by SM <sub>n</sub> (30~60 nm).	[22]
马氏珠母贝 <i>Pinctada fucata</i>	IM <sub>n</sub> + SM <sub>n</sub> 形成针状文石。 Needle aragonite could be induced by IM <sub>n</sub> + SM <sub>n</sub> .	[23]

注: SM, IM 分别表示水可溶蛋白质和水不可溶蛋白质, 下标 p 表示对应的蛋白质来自贝壳棱柱层, 下标 n 表示对应的蛋白质来自珍珠层。

Notes: SM and IM represent water soluble and water insoluble proteins respectively; subscript p represents proteins extracted from prismatic layers of shell, and subscript n represents proteins extracted from nacreous layers of shell.

诱导出同珍珠层中文石相同的板片状晶形,部分种类蛋白质诱导出的文石与无机成因的相同。如蛋白质 N16 (或 N66和 N14) 与 IM (蛋白质混合物) 共同存在时,通过在溶液中添加 MgCl<sub>2</sub> 组分,可诱导出和珍珠层中的文石一样的板片状晶形,而相同实验条件下 SM 单独存在时,只能诱导出针形或球形文石的形成<sup>[14,20]</sup>。

饱和碳酸钙溶液中,珍珠层中的 SM 普遍能抑制碳酸钙的成核结晶,特别是 SM 混合物无一例外,因此,导致珍珠层中的文石粒度一般在纳米级<sup>[8]</sup>,单组分 SM 单独存在时一般抑制碳酸钙的结晶,如 N16 N66 N14 等<sup>[14,20]</sup>,但 Mucoperlin 不能抑制碳酸钙的成核结晶<sup>[17]</sup>, Perlucin 却明显诱导碳酸钙的结晶<sup>[15]</sup>。

总之,蛋白质对珍珠层中文石晶形、粒度等的控制作用是明显存在的,但体外的仿生矿化实验目前还不能复制呈现珍珠层中文石的形貌。这种详细的控制机制仍需进一步工作。

### 3 讨论

珍珠层中的有机质是珍珠层具有优越力学性能的重要原因之一<sup>[25]</sup>。珍珠层是一种具生物活性、可生物降解及能诱导骨生长的生物材料,其中重要原因是其有机质中含有信号分子能促使珍珠层与骨形成骨结合<sup>[26]</sup>。珍珠层中的蛋白质与其它动物中蛋白质的相似功能和序列的存在为了解生物进化提供了一定的在分子级的证据。尤其有意义的是珍珠层中的蛋白质如 Mucoperlin 属粘蛋白质类, Perlucin 属 C 型 Lectin 类蛋白质,而粘蛋白及 Lectin 类蛋白质在医学上的功能已有众多的研究,因此,珍珠层中蛋白质的研究可为珍珠在传统中药中的应用提供科学依据。以上事实表明对珍珠层有机质的研究具有非常重要的实际意义。

自然界约有数万种软体动物(主要是双壳类、头足类及腹足类)能形成珍珠层,不同种类动物的珍珠层在结构上具有惊人的相似性,因此,控制珍珠层形成的有机质(蛋白质)存在一定的共性,例如,珍珠层中蛋白质混合物的生物化学研究表明其中的 SM 中酸性氨基酸含量较高,富含亲水基团,因此,多为酸性糖蛋白质类,IM 中中性及非极性氨基酸含量较高,富含疏水基团。然而,现代分子生物学研究表明珍珠层中主要的单体蛋白质种类繁多,结构功能多样,且 IM 中同样含有酸性基团,一般不同种类动物珍珠层中的蛋白质不具可比性,只有在极少数相近的种属间有一定的可比性。

虽然普遍认为珍珠层的微结构是由有机质控制的,然而关于这种控制的机理仍有待于进一步研究。目前不同作者的研究还存在矛盾的地方,单组分蛋白质与碳酸钙的相互作用和蛋白质混合体与碳酸钙的

相互作用同样不能自圆其说。说明了珍珠层形成的复杂性,要详细了解珍珠层形成的分子机制,仍需要各学科的学者通力协作。

### 参考文献

- 1 崔福斋,冯庆玲.生物材料学.北京:科学出版社,1997.
- 2 Mann S. Molecular tectonics in biomineralization and biomimetic materials chemistry. Nature, 1993, 365(7): 499~505.
- 3 张刚生.珍珠层的微结构及其中类胡萝卜素的原位研究.广州:中国科学院广州地球化学研究所(博士论文),2001.
- 4 Curry J D. Mechanical properties of mother of pearl in tension. Proc R Soc Lond, 1977, 196B: 443~463.
- 5 Okumura K, de Gennes P G. Why is nacre strong? Elastic theory and fracture mechanics for biocomposites with stratified structures. The Eur Phys J E, 2001, 4: 121~127.
- 6 Kramptz G, Graser G. Molecular mechanisms of biomineralization in the formation of calcified shells. Angew Chem Int Ed Engl, 1988, 27: 1145~1156.
- 7 Gutmannsbäuer W, Hänn H A. Structural and chemical investigation on shells and pearls of nacre forming salt-and fresh-water bivalve molluscs. J Gemm, 1994, 24(4): 241~252.
- 8 Weiner S, Hood L. Soluble proteins of the organic matrix of mollusk shells: a potential template for shell formation. Science, 1975, 190(5): 987~988.
- 9 Watabe N. Studies on shell formation XI. crystal-matrix relationships in the inner layers of mollusk shells. J Ultrastruc Res, 1965, 12: 351~370.
- 10 Hare P E. Amino acid in the proteins from aragonite and calcite on the shells of *Mytilus californianus*. Science, 1963, 139(18): 216~217.
- 11 Crenshaw M A. The soluble matrix from *Mercenaria mercenaria*. Biomineralization, 1976, 6: 6~11.
- 12 Weiner S, Traub W. Macromolecules in mollusc shells and their function in biomineralization. Phil Trans R Soc Lond B, 1984, 304: 425~434.
- 13 Miyamoto H, Miyashita T, Okushima M et al. A carbonic anhydrase from the nacreous layer in oyster pearls. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 9657~9660.
- 14 Kono M, Hayashi N, Samata T. Molecular mechanism of the nacreous layer formation in *Pinctada maxima*. Biochem and Biophys Res Commu, 2000, 269: 213~218.
- 15 Mann K, Weiss I M, André S et al. The amino acid sequence of the abalone (*Haliotis laevis*) nacre protein perlucin. Eur J Biochem, 2000, 267: 5257~5264.
- 16 Weiss I M, Kaufmann S, Mann K et al. Purification and characterization of perlucin and perlustrin, two new proteins from the shell of the mollusc *Haliotis laevis*.

- 17 Marin F, Corstjens P, de Gaulejac B et al. . Mucins and molluscan calcification. J biol chem, 2000, 275 ( 27): 20667~ 20675.
- 18 Shen X Y, Belcher A M, Hansma P K et al. . Molecular cloning and characterization of lustin A, a matrix protein from shell and pearl nacre of *Haliotis rufescens*. J Bio Chem, 1997, 272( 51): 32472~ 32481.
- 19 Sudo S, Fujikawa T, Nagakura T et al. . Structures of mollusc shell framework proteins. Nature, 1997, 387(5): 563~ 564.
- 20 Samata T, Hayashi N, Kono M et al. . A new matrix protein family related to the nacreous layer formation of *Pinctada fucata*. FEBS Letters, 1999, 462: 225~ 229.
- 21 Belcher A M, Wu X H, Christensen R J et al. . Control of crystal phase switching and orientation by soluble mollusc-shell proteins. Nature, 1996, 381( 2): 56~ 58.
- 22 Feng Q L, Pu G, Pei Y et al. . Polymorph and morphology of calcium carbonate crystals induced by proteins ex-

tracted from mollusk shell. Journal of Crystal Growth, 2000, 216: 459~ 465.

- 23 马文涛,沈亦平,曹连欣.贝壳有机质对 CaCO<sub>3</sub>晶形形成的控制作用.武汉大学学报(自然版),1996,42(4): 469~ 474.
- 24 Falini G, Albeck S, Weiner S et al. . Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules. Science, 1996, 271( 5): 67~ 69.
- 25 Smith B L. The importance of molecular structure and conformation learning with scanning probe microscopy. Progress in Biophysics & Molecular Biology, 2000, 74: 93 ~ 113.
- 26 Kim Y W, Kim J J, Kim Y H et al. . Effects of organic matrix proteins on the interfacial structure at the bone-biocompatible nacre interface in vitro. Biomaterials, 2002, 23: 2089~ 2096.

(责任编辑: 邓大玉)

---

(上接第 305页 Continue from page 305)

- 32 杜宪兴,施渭康.白血病抑制因子与发育和干细胞生长、分化.生命科学,1996,8(1): 27~ 30.
- 33 Pease S, Braghetta P, Gearing D. Isolation of embryonic stem (ES) cell in media supplemented with recombinant leukemia inhibitory factor (LIF). Dev Biol, 1990, 141: 334~ 352.
- 34 Aitstin G S et al. . Differentiation inhibiting activity (DIA/LIF) and mouse development. Dev Biol, 1992, 151: 339~ 351.
- 35 Smith A G, Hooper M L. Buffalo rat liver cells product a diffusible activity which inhibits the differentiation of murine embryonic carcinoma and embryonic stem cells. Dev Biol, 1987, 121: 1~ 9.
- 36 韩 嵘,柴桂萱,尚克刚.大鼠心肌条件培养基对形成小鼠 ES 细胞集落的影响.北京大学学报(自然科学版), 1997, 33(2): 185~ 188.
- 37 Sims M M, First N L. Production of fetus from totipo-

tent cultured bovine embryonic stem cell. Reproduction of Fertilization, 1994, 6: 569~ 575.

- 38 Aitstin G S. Differentiation inhibiting activity (DLA/LIF) and mouse development. Dev Biol, 1992, 151: 339 ~ 351.
- 39 Massagul J. Stimulation by insulin-like growth factors required for cellular transformation by type b-transforming growth factor. J Bio Chem, 1985, 260: 4551~ 4554.
- 40 Berger C N, Strum K S. Self-renewal of embryonic stem cells in the absence of feeder cells and exogenous leukaemia inhibitory factor. Growth Factor, 1997, 14(2 ~ 3): 145.
- 41 杜宪兴,施渭康. LIF基因传染的 ES细胞生长与分化特性的研究.实验生物学报,1996,29(4): 413~ 421.

(责任编辑: 蒋汉明)