

# 知識天地

## 奈米鑽石新生命

韓肇中（原子與分子科學研究所副研究員） 張煥正（原子與分子科學研究所研究員）

天然鑽石的稀少與炫目的光澤，數千年來一直被視為珍寶，直到科學昌明、製造工藝突飛猛進的 20 世紀，鑽石才在代表權勢的飾物之外找到了新的價值。2005 年 5 月間，毛河光院士（Ho-kwang David Mao）和他的同事赫姆利（Russell Hemley）使用先進的化學氣相沉積法（chemical vapor deposition）破天荒地“養”出一顆寶石等級的 10 克拉無色單晶鑽石。此科技成就經過媒體誇張地和牛糞相提並論後，一時在坊間成為不少人磨牙的話題，順勢之下普羅大眾多少就有機會認識了鑽石的科技面相。

對於碳元素衍生材料的研究，特別是奈米碳管（carbon nanotube）及鑽石鍍膜，在近 10 年來已經成為材料科技的顯學。在工業、科學、及醫療器材上的主要應用不外乎取其獨特的物理、化學特性 例如高硬度、高導熱性、半導體性、低摩擦係數、表面的化學鈍性和電磁輻射的穿透性等等。近年來，奈米生物技術（nanobiotechnology）不但是報章雜誌極為熱門的科學報導題材，也是國家重點推動的研究項目之一。在此，我們簡要地介紹奈米鑽石晶粒（diamond nanocrystallite）在生物醫學上的新應用。

### 一、蛋白質體學（proteomics）研究的新穎固相萃取（solid-phase extraction）材料

鑽石的表面一般覆蓋著一層疏水性的 C-H 鍵結，在強氧化酸性處理下，鑽石表面經由氧化而生成羧基（COOH）或其他含氧的官能基（例如 C=O、C-O-C 等），故而產生親水性。在早期的研究中，我們首先針對平均大小為 5 nm 和 100 nm 的兩種顆粒進行一系列的比較，得知他們的表面生化特性並不因粒徑而有明顯的差異。這些鑽石顆粒對於多肽和蛋白質，普遍具有很強的吸附力，藉由調整溶液的酸鹼度，更可以適度地反映出該多肽的等電位點（isoelectric point, pI）。這種吸附特性可以應用於從複雜的生物樣本基質中萃取其中的特定種類分子，例如從血液或是尿液中快速分離出多肽和蛋白質，因而簡化檢體化驗分析的流程，在臨床醫學研究上有潛力成為篩選疾病相關生物指標分子（biomarker）的利器。

在一般的蛋白質純化流程中，經常會使用三氯乙酸及有機溶劑來使蛋白質沈澱（TCA precipitation），此步驟視溶液中蛋白質的濃度，處理的溫度從 4 到 -80、孵育（incubation）的時間由半小時到 12 小時或更久不等，通常被視為一項不討喜的苦差事，特別是面對著液相層析從複雜樣品收集到的許多餾分（fraction）時。鑽石顆粒用在達成此目的的過程可以簡化為：在含有蛋白質的樣品中直接加入適量的奈米鑽石懸浮液，充分混和，立即可以用離心法將吸附了蛋白質的鑽石顆粒收集。此操作方法適用於極大的濃度範圍（ $<10^{-9} - 10^{-5} M$ ），若非有特定目的，溶液的酸鹼度也不需刻意調整。保守地說，縱使基質中存有高濃度的鹽類和表面活性劑，不出十分鐘就可以從複雜的基質中把蛋白質萃取出來，這特性是目前市面上固相萃取產品無法一步完成的。

吸附了蛋白質的鑽石顆粒可以直接用凝膠電泳進一步分離、純化所吸附的蛋白質，或是直接用基質輔助雷射脫附游離質譜術（matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry）進行餾分中蛋白質的快速鑑定。由於鑽石顆粒表面同時具有疏水和親水的兩極性能，使得實驗人員可以透過調整溶液酸鹼值的方式達到控制蛋白質吸附或是溶解的狀態。因此，若是要透過液相層析初步分離再做質譜分析的話，也只需要把吸附了蛋白質的鑽石顆粒，多加一步簡單的洗提（elution）操作，就可以輕易完成。至於要作蛋白酶（protease）消化處理後再透過胜肽質譜身份鑑定（peptide mass fingerprinting）來確認蛋白質組成的分析，則可直接對吸附了蛋白質的鑽石顆粒進行標準的蛋白酶消化反應，之後消化生成的胜肽片段會自動脫離鑽石表面而溶解出來。目前我們應用奈米鑽石晶粒從事蛋白質體分析的研發工作，是針對配合強大的質譜分析工具而進行，一般性的樣品操作流程能夠從尿液中鑑識出 125 種蛋白質，可以說是已經有實用價值。

## 二、螢光奈米鑽石晶粒的產生與分子生物學應用

螢光標示分子的各種巧妙應用，立下了分子生物學的里程碑。隨之而起的需要是更亮、更持久、生物相容性更好的標示記號。1980 年代發明的量子點 ( quantum dot )，經過多年的開發，在新世紀初的現在也奪下不少生物科技報導的版面。量子點目前的一大遺憾，就是它們都含有毒性的金屬元素，因此在活體動物 尤其是人類 上的應用就受到許多限制。完全由碳元素構成的奈米碳管和鑽石，在傳統上都被認為是具有不錯生物相容性的材料，而奈米鑽石被應用於人工髖關節和心臟血管支架的顯著實例，更是我們選擇開發螢光鑽石的一個重要原因。

早在 1970 年代，物理學家就發現，經過高速粒子的轟擊的鑽石會產生晶格缺陷，發出“永恆”的螢光。因此我們踏出的第一步，就是利用類似的方法產生足夠讓我們作生化試驗所需數量和大小的螢光奈米鑽石。隨後，我們在培養皿上讓人類腎臟表皮細胞吞噬螢光奈米鑽石，繼之透過螢光顯微鏡觀察它們在細胞內的分佈、對細胞生長的影響、及螢光持續的狀況等。所有的初步測試都十分令人振奮，如我們所預期的，奈米鑽石並沒有毒性。在持續光激發 8 小時後，完全沒有光漂白 ( photobleaching ) 的跡象，而且在初步試作階段，我們的螢光效率已經能夠達到 10% 以上，粒徑約為 35 nm 的單一顆螢光奈米鑽石可以很容易的被觀察到。我們預期，將來在生產製程最佳化後，奈米鑽石的螢光強度應有超越量子點亮度的機會。另外值得一提的是，有晶格缺陷的鑽石晶粒能夠產生不同顏色的螢光，特別是大紅色 ( extended red 700 nm ) 的螢光，它對生物組織有相當好的穿透力，可應用於活體生物顯影，這項優點使得螢光奈米鑽石更有開發與研究的價值。

去年底，本研究團隊在《美國化學會誌》( Journal of the American Chemical Society ) 發表了一篇論文，探討螢光奈米鑽石特性與新製程。在兩個月的時間裡，該螢光奈米鑽石已經兩度被國外的科技刊物—《新科學家》( New Scientist ) 和《國際生醫光電》( Biophotonics International )—以科技新聞的方式報導，並獲刊於《國際生醫光電》雜誌 2006 年 2 月號之封面。目前我們正努力開發量產螢光奈米鑽石的可行性，已有所突破。

## 三、後續研發方向

奈米鑽石晶粒表面經由氧化酸性處理所產生的簡單含氧官能基，可以進一步用化學方法加以修飾，而成為具有新特性的表面，透過這些新的表面性質，奈米鑽石晶粒就可以被賦予許多特殊設計的新應用。例如，表面修飾過的奈米鑽石晶粒可以當作基因轉植的載體。另外，在接上如抗原般具有特異性作用力的生物分子後，鑽石顆粒在生物系統中將能具有辨識目標的能力；如果這種能力被加添在能夠發螢光的鑽石顆粒上，我們就有機會擁有一個能夠長期用於活體生理現象追蹤、顯影的新工具。

我們的知識和智慧所及有限，希望能藉此簡介拋磚引玉，讓讀者想出更多奈米鑽石的新應用。