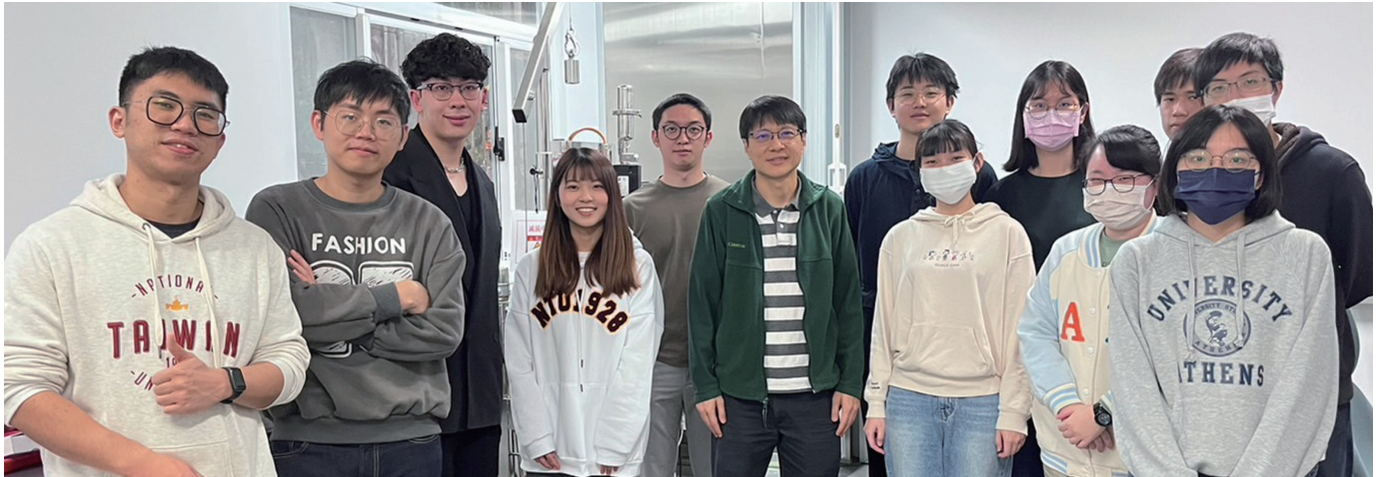


可自我修復的新興蜘蛛絲材料

吳亘承教授 臺灣大學生化科技學系
楊大毅教授 中原大學化學工程學系



臺灣大學生化科技學系吳亘承教授 (左六) 與研究團隊。

自古以來，“絲”這種材料深深吸引著人類的想像力，但是由於產量稀少因此價格相對昂貴，也因此成為了市場上的奢侈品，更是區分社會階級的重要象徵。然而，與一般大眾常認知的蠶“絲”相比，蜘蛛“絲”更以卓越的性能而聞名。目前全球已發現的蜘蛛種類超過五萬種，估計有更多的蜘蛛種類尚未為人所知。而蜘蛛可紡出多種的蜘蛛絲類型，同時具有不同的用途與物理性質，其中包括製作蜘蛛網主要結構的大壺狀 (Major Ampullate, MA) 腺絲、幫助蜘蛛在蜘蛛網上時固定身體的小壺狀腺絲、以及將獵物纏住以防止獵物逃脫的鞭狀腺絲等 [1]。根據文獻指出蜘蛛絲具有獨特的機械性質如高強度、韌度還有延展性等，其強度與韌性甚至優於鋼材與防彈背心材料克維拉 (Kevlar)。更令人興奮的是蜘蛛絲的質量極小，具有優異的生物相容性和低生物降解率。除此之外還可以在生物環境中長期保持穩定性，副產物無毒，對環境不易造成負擔，可作為生物性材料分子設計與發展的典範，目前也廣為使用在手術縫線、人工皮膚、藥物運輸系統等醫療用途 [2]。

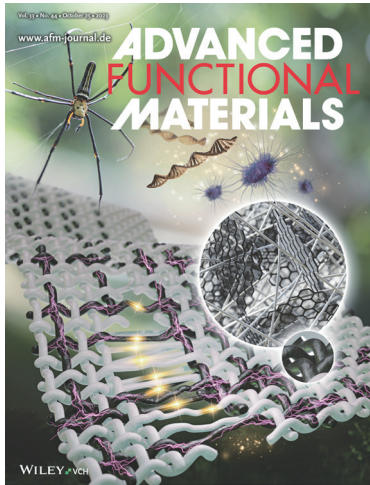
近年來，科學界發現蜘蛛絲具有獨特機械性質的原因來自於蜘蛛絲蛋白質的序列與分子結構。依據蜘蛛絲種類的不同，分子量介於 43-500 kDa，其分子構造涵蓋許多重複結構片段的核心理區域，以及位於蛋白質兩端的氮端結構域 (N-terminal domain, NTD) 與碳端結構域 (C-terminal domain, CTD)。重複序列的核心理區域為蜘蛛絲蛋白質的主體 (>90%)，主要結構由丙胺酸 (alanine, A) 以及甘胺酸 (glycine, G) 的序列組成，經由許多獨特的重複序列的分子交互作用，進而形成 β -摺板 (β -sheet) 及 β -轉角 (β -turns)

的蛋白質二級結構。經過有序的排列後可得複雜的奈米結晶與彈性結構，使得蜘蛛絲有出色的機械性能 [3]。

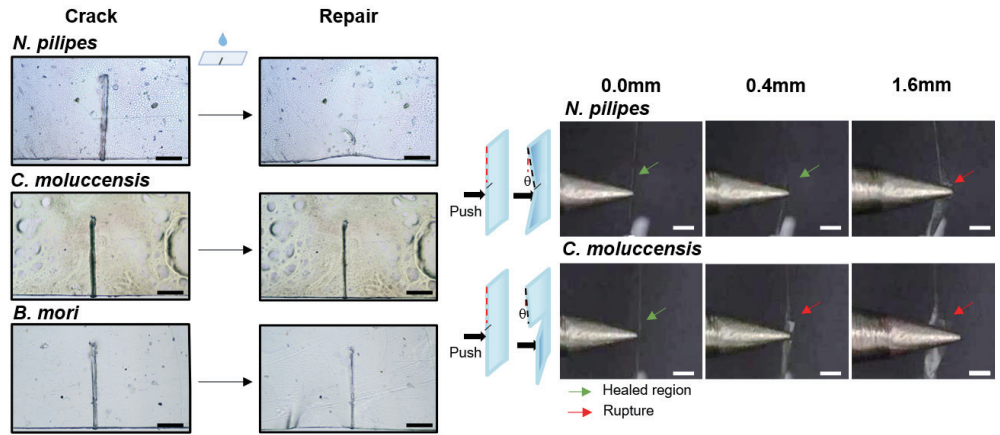
蜘蛛絲蛋白質可以根據其加工和組裝程序發展成不同的形態，最重要的像是纖維、薄膜、水凝膠、不織布、微球體和膠囊等。然而，特別的是由本實驗室研究發現，天然蜘蛛絲具有自我修復的特性。這是生物為了克服環境造成的損害，進而演化出透過材料內部的自我修復機制來應對外來的干擾。在過去文獻中，科學家也曾發現其他的天然材料有這種特性。例如在天然的自我修復蛋白質中，最有名的就是魷魚環齒 (Squid Ring Teeth, SRT) 中衍生出一種獨特多肽材料。其蛋白質結構為 β -sheet 結晶與無定型區域 (amorphous region) 交錯組成，此結構特性與自我修復能力息息相關。而蜘蛛絲的蛋白質結構與上述的材料相似，其擁有極佳的強度和韌性，可提供不同的維度、結構和分子動態，未來發展的潛力和方向非常廣泛且強大 [4]。本研究的成果日前發表於先進功能材料 Advanced Functional Materials [5]，為第一個證實蜘蛛絲為具有良好適應能力的自我修復材料。由於此材料的新穎特性，該研究成果獲選為當期封面故事報導 (圖一)。接下來，我們將簡介探討蜘蛛絲生物材料的自我修復能力，並進階應用於未來生物工程材料或功能性生物裝置。

天然蜘蛛絲材料的可修復性

首先，我們透過薄膜的結構來探索由台灣人面蜘蛛 (Nephila pilipes) 的大壺狀腺所產生的蜘蛛絲的材料修復



圖一 此研究成果獲選為第 33 期先進功能材料期刊 (Advanced Functional Materials) 封面故事。(Copyright 2023, Wiley-VCH GmbH)



圖二 利用三種不同的天然絲製作成薄膜，進行刀片劃痕和修復的實驗，並用水濕潤以觀察薄膜修復的狀況。同時也使用金屬棒對薄膜施加推力，薄膜將被推動並變形，直到癒合區域破裂，最後記錄薄膜變形狀況。(Copyright 2023, Wiley-VCH GmbH)

能力，同時與其他蜘蛛泉字雲斑蛛 (*Cyrtophora moluccensis*) 和家蠶 (*Bombyx mori*) 相對應的絲一比較。我們選用雌性蜘蛛並將其固定，而後透過定速馬達控制的滾輪收集器收集絲纖維，並將絲樣品溶解在六氟異丙醇中以製造薄膜。接著，我們使用刀片劃痕的方式於薄膜模型上製造裂痕，並去離子水引入薄膜的裂縫區域。接著在顯微鏡下監測經水處理的薄膜，並評估其恢復的狀況。結果如圖二所示，人面蜘蛛絲薄膜上的疤痕癒合效果最為顯著，可以明顯觀察到。相較之下，泉字雲斑蛛和家蠶的絲膜上所殘留的疤痕仍清晰可辨。除了型態修復測定之外，我們也使用阻力測試的方法作為修復的指標。以金屬棒逐漸對已癒合的絲膜施加推力，隨著時間的增加，薄膜將被推動並變形，直到癒合區域破裂。最後記錄薄膜變形狀況，並沿著金屬棒施加的推動距離繪製了絲膜的變形角 (θ)，對應癒合薄膜的彎曲程度。結果顯示，人面蜘蛛的癒合薄膜 (1.6 mm) 所能承受的推力高出許多，在癒合區域再次斷裂之前，可以承受高達 $\theta \approx 20^\circ$ (金屬棒移動 1.6 mm) 的外力；相反，泉字雲斑蛛絲膜隨著金屬棒的移動表現出最小的變形 $\theta \approx 2.5^\circ$ (金屬棒移動 0.4 mm)，顯示薄膜無法抵抗金屬棒施加的力。因此，與其他絲相比，我們所選擇的人面蜘蛛絲材料具有良好的自我修復的能力，在理解天然蜘蛛絲材料的性質和仿生工程材料上提供了一條新途徑。

生物合成人面蜘蛛之重組蜘蛛絲蛋白的建構

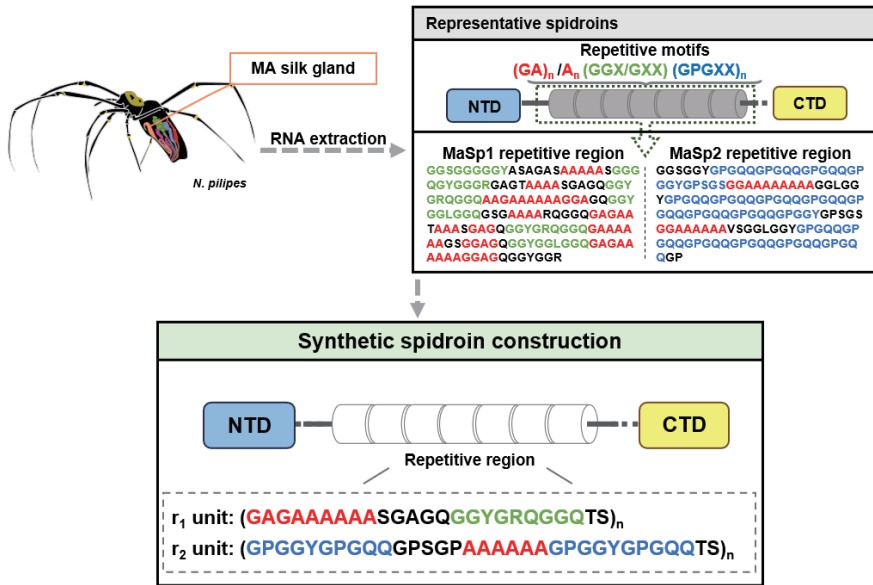
受到自人面蜘蛛的絲材料癒合能力的啟發，我們將找尋可生產此種癒合功能的生物工程材料。然而由於蜘蛛具有同類互食的習性，飼養成本高，天然蜘蛛絲取得不易，為了解決此困境，我們採用次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS) 和合成生物學 (Synthetic Biology, SynBio) 兩種策略來解碼人面蜘蛛結構複雜的絲，並透過生物合成的方式合成仿生蜘蛛絲蛋白。如圖三的結果，我們分離

人面蜘蛛的 MA 絲腺，進行 mRNA 萃取和 NGS 分析。我們初步鑑定了 6 組蜘蛛蛋白 MaSp1 相關轉錄體和 7 個 MaSp2 相關轉錄體，同時透過定序分析，我們確定了一系列標誌性的模組： $(GA)_n/A_n$ 、 (GGX/GXX) 和 $(GPGXX)_n$ ，其中 $(GA)_n$ 和 A_n 為 β -sheet 相關序列，是 MaSp1 和 MaSp2 中結晶結構的主要建構模組； (GGX/GXX) 為螺旋 (helix) 結構相關序列，僅出現在 MaSp1 中； $(GPGXX)_n$ 是負責蜘蛛絲彈性的 β 螺旋序列，此為 MaSp2 中的一個特徵。

因此，基於 MaSp1 和 MaSp2 的序列結構，我們相對應地設計了兩個仿生序列，分別為 r1 和 r2，並以這兩段序列作為合成蜘蛛絲聚合材料的核心結構。我們利用生物磚 (BioBrick) 克隆的方式將 r1 和 r2 為單元建構 32 個重複片段，兩側是 NTD 和 CTD 結構域，產生重組蜘蛛絲 R1 (分子量約：91 kDa) 和 R2 (分子量約：121 kDa)。我們利用大腸桿菌作為異源載體系統來製造生物合成的 R1 和 R2 的蜘蛛絲蛋白，以同時開發出一個新型的蜘蛛絲蛋白質純化系統，並使用不同於傳統透過親和力層析的蛋白質分離方式。這是受到天然 MA 蜘蛛絲蛋白可形成膠束性質的啟發，我們生物合成的 R1 和 R2 可以自組裝成奈米結構，因此可以透過洗滌劑洗滌和離心速度的差異，建立一種針對奈米結構蜘蛛絲材料量身定制的省時且經濟高效的純化方案。

生物合成蜘蛛絲蛋白的自我修復

為了分析生物合成蜘蛛絲蛋白 R1 和 R2 的可修復性，我們同時進行了材料自我修復測試，同樣地進行刀片劃痕和修復的測試。結果顯示，癒合後 R1 薄膜的疤痕仍然存在，而癒合後 R2 薄膜並沒有觀察到疤痕，可得知 R2 的可癒合性更優於 R1。另外，我們也利用 XRD 和 FTIR 的光譜對 R1 和 R2 進行結晶度估計和二級結構分析，都發現 R1 的結晶度和 β -sheet 結構皆高於 R2。

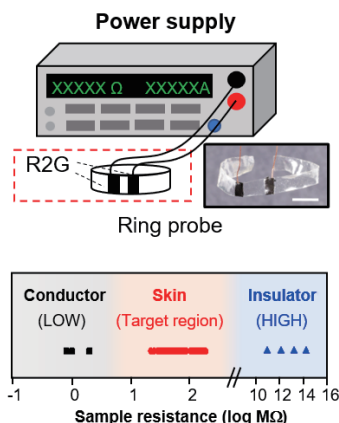


圖三 解剖台灣人面蜘蛛分離出 MA 腺體，進行 RNA 萃取和 NGS 分析，將獲得的基因序列進行蜘蛛絲蛋白鑑定，並生物合成蜘蛛絲蛋白 R1 和 R2。(Copyright 2023, Wiley-VCH GmbH)

我們推測癒合能力的秘密取決於蜘蛛絲材料結構中非結晶區域之間的動態相互作用，也就是說生物合成蜘蛛絲材料的無定形區域主要負責癒合特性，絲材料能夠快速修復的原因在於非共價氫鍵驅動的超分子耦合；此外，利用水的塑形作用，在物理接觸時主動軟化自由的非結構化的聚合物鏈，從而加速內聚黏合效率。事實上，與化學合成材料的機制相比，蛋白質材料的自我修復機制的研究較少，但複雜的癒合動力學將受到各方面的相互作用而有所影響，例如生化設計、分子量和製造過程。因此，我們後續將進一步研究對於潛在的分子機制以及開發未來有用的可修復材料。

利用生物合成蜘蛛絲 R2 製作的穿戴式設備

最後，我們試圖探討生物合成蜘蛛絲蛋白可逆癒合的可行性及其在生物設備應用中的實用性，我們使用可重新修復



圖四 將可修復的蜘蛛絲蛋白 R2 製作成可穿戴式感測器，並可在顯示器顯示電阻訊號的高低。(Copyright 2023, Wiley-VCH GmbH)

的 R2，將其設計為可調節的形狀和結構，並在 R2 材料中混合石墨烯，使其具有導電性質，藉此升級用作電阻測量的指環探針或人體皮膚感測器。經過實驗結果發現 (圖四)，我們成功利用指環探針的裝置測量手指上的電阻，並可在顯示器顯示電阻訊號的高低。鑑於上述結果，絲指環探針裝置可被作為穿戴式生物感測器或生物電子系統的一部分。我們認為具有可環境永續性且生物相容性特質的絲材料生物裝置，將可滿足全球市場對於生物電子和柔性穿戴設備的需求，同時我們認為此研究的生物合成蜘蛛絲材料，兼具功能性、可程式化、自癒性、生物相容性和物理性質強韌等性質，可以提供未來生物裝置新的可能性。

蜘蛛絲有著其獨特的分子層次結構，具有串聯重複的結晶域和無定型區域，因此貢獻出複雜的超分子相互作用和顯著的物理特性。蜘蛛絲材料的特色在於動態組裝性、柔韌性和抗擾性，可以進一步用於自適應材料的開發，如可穿戴電子產品、智慧紡織品、功能塗層、可修復設備、軟機器人和防護裝備等方面提供一系列應用。事實上，大自然中尚有大量未經開發的寶貴生物資源，它們具有令人著迷的生物與物理化學特性。我們預期透過合成生物學和生物製造的力量，我們可以快速實現生物材料創新，並進一步改變仿生學的研究格局與未來應用。

本研究團隊感謝國家同步輻射研究中心的長期支援，尤其我們特別感謝許火順博士與張博雅博士對於 TLS 01C2 光束線 XRD 實驗設計、數據分析與分子模型等討論與協助。

參考文獻

1. B. Bakhshandeh, S. S. Nateghi, M. M. Gazani, Z. Dehghani, F. Mohammadzadeh, *Int. J. Biol. Macromol.* **192**, 258 (2021).
2. S. Salehi, K. Koeck, T. Scheibel, *Molecules* **25**, 737 (2020).
3. J. Li, S. Li, J. Huang, A. Q. Khan, B. An, X. Zhou, Z. Liu, M. Zhu, *Adv. Sci* **9**, 2103965 (2022).
4. A. Miserez, D. Rubin, J. H. Waite, *J. Biol. Chem.* **285**, 38115 (2010).
5. W. C. Chen, R. C. Wang, S. K. Yu, J. L. Chen, Y. H. Kao, T. Y. Wang, P. Y. Chang, H. S. Sheu, S. C. Chen, W. R. Liu, T. I. Yang, H. C. Wu, *Adv. Funct. Mater.* **33**, 2303571 (2023).

