

人物報導

專訪第三屆光環論文獎(自然科學領域)得主-李耀昌博士



李耀昌博士(左二)與研究團隊鍾昭宇博士(左一)、黃佩瑜小姐(左三)、王俊杰博士(右三)、江正誠先生(右二)於 TLS 14A1 實驗站合影。

為吸引更多科學家積極投入同步加速器光源設施的技術研發及科學研究，本中心特別設立「光環論文獎」之獎勵機制。2023 年舉辦第三屆光環論文獎(自然科學領域)申請，在眾多優秀科學成果的激烈競爭中，本中心科學研究組李耀昌副研究員及加拿大多倫多大學 Robert R. Reisz 教授共同組成的國際研究團隊，以發表在 Nature Communications「最古老的恐龍膠原蛋白及其天然防腐機制」的研究成果脫穎而出，實至名歸。

李耀昌博士自 2002 年取得清華大學化學博士，主要的研究領域在分子光譜及分子軌域的理論計算。畢業後投入生物醫學相關的領域，從事疾病的診斷與癌症篩檢技術相關的研究，2012 年加入古生物的研究團隊，同時進行生物醫學相關的研究。此次榮獲光環論文獎的肯定，李博士(以下用第一人稱取代)表示：「感謝陳建德院士設立這個獎項，讓我們的研究團隊有機會爭取自然科學領域光環論文獎的榮譽。這是一個團隊成員分工與合作的成果，榮耀屬於大家。同時也很感謝評審委員們的認可，光環論文獎對我們古生物研究團隊有很大的鼓舞」。

研究發想與重大突破

我常說：「在科學研究上問對問題比研究的過程更為重要」，能解決一個大家關心的科學議題，科學的結果產生的共鳴就會越大。而研究過程與成果最重要的部分是成員的分

工合作，團隊中每個成員都有該扮演著突破的技術瓶頸的角色，每一個研究技術所產生的數據及解讀也都是成就這個研究的重要環節。另外，用對科學技術及工具是解開科學問題讓答案不拖泥帶水的重點，國家同步輻射研究中心許多尖端的科學實驗設施與技術研究人員就提供一個解開核心科學問題的重要利器。

以往台灣在古生物界並沒有受到太多的關注，2012 年我第一次參與加拿大多倫多大學 Robert R. Reisz 教授、中興大學黃大一榮譽教授、成功大學口醫所謝達斌教授、及中央大學光電所張榮森教授等科學家所組成的祿豐龍胚胎化石研究團隊，他們想解開 1.95 億年的胚胎化石內是否還保存著生物的核酸與蛋白質等有機成分之謎，而同步輻射設施中紅外光譜顯微術實驗站 TLS 14A1 是唯一可提供非破壞式的有機成分量測與鑑定的實驗站。對於紅外顯微術實驗站而言，這是第一次嘗試量測這麼珍貴的胚胎化石樣品，但是紅外光的穿透力並不如 X 光，首先必須克服的瓶頸就得先將化石樣品打磨成大約 30 微米厚度的薄片。2012 年的某一天 Robert R. Reisz 教授與黃大一教授來實驗站拜訪我並提出樣品量測的需求，我順口說：「只要樣品能磨成薄片就沒有問題，紅外實驗站就可以測量化石的紅外光譜及影像」，孰不知製備超薄化石樣品是件艱難的工作，而且胚胎化石非常稀少且珍貴，所以超薄試片樣品的製備必須非常謹慎。2012 年胚胎化石的量測是同步輻射紅外實驗站的首次嘗試，我們努力了一年，Robert 與團隊提出的侏羅紀恐龍胚



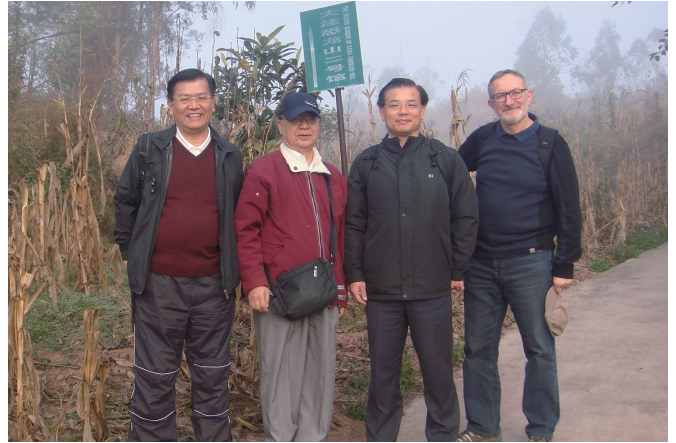
註：黃大一教授（右一）。

胎學 (Jurassic Embryology) 及化石有機殘留物的同步輻射紅外光譜影像的成果登上 2013 年 Nature 期刊封面故事 (Nature **496**, 210 (2013))，這鼓舞了所有在紅外顯微術實驗站的同仁甚至整個中心。

乘著這股氣流，2014 年我隨著研究團隊來到世界上出土恐龍化石最豐富、最完整、最古老、最原始的地區之一的雲南省祿豐市的大洼恐龍山探尋恐龍化石的材料做為進行化石中有機殘留物計畫的材料。我們到達大洼恐龍山發現的第一個難題是化石蒐集受到中華人民共和國的自然資源部管轄，必須先取得在當地進行化石野地考察的合法性。第二個難題是山區是個含有豐富針鐵礦的紅色土壤的區域，在紅色的恐龍山上搜尋被紅色土壤包覆的化石，使我們在區分一般岩石與化石就變得非常困難。在楚雄彝族自治州博物館地質專家的陪同指導之下，我們進行了野地考察並將採集到的祿豐龍化石與博物館內的肋骨化石進行測試。

究竟在血管腔中的有機物是什麼？這是我們相當好奇的問題。大部分科學家從事研究多會先嘗試自己慣用的方法進行分析，例如第一位揭露恐龍化石中保存有血管和紅血球的生物學家美國蒙大拿州立大學的瑪麗史懷哲 (Mary Schweitzer) 教授，她利用傳統的生物技術去標定那些她認為可能在恐龍骨頭化石中保存的蛋白質。結果不意外，她利用膠原蛋白的抗體成功的在血管上標定膠原蛋白的分子，而且進一步的利用質譜儀量測到組成膠原蛋白的主要成分氨基酸，質譜的訊號顯示與駝鳥、鱷魚的膠原蛋白有相同的氨基酸成分。

質譜儀的靈敏度非常高，一旦樣品被污染就會被量測到。質譜的量測在沒有嚴謹的樣品製備程序管控，數據就會一直被質疑，而瑪麗的質譜儀系統同時用來量測暴龍、駝鳥及鱷魚的膠原蛋白，質譜數據顯示的結果究竟是化石中的膠原蛋白？還是前一次試驗樣品的殘留物？也因為如此，古生物界的科學家一直質疑瑪麗的化石樣品受到這些樣品的污



註：張榮森教授（左二）、Robert R. Reisz 教授（右一）。

染。然而使用紅外光譜技術的優點則是化石樣品不須經過生化技術或化學反應的處理，可避免樣品被污染，在磨成薄片後可直接量測光譜即可獲得化石樣品的組成成分。

依據我們在 2013 年 Nature 恐龍胚胎化石的超薄試片製作的經驗，一片橫切面的超薄化石試片在斷面只保留厚度約 20-30 微米的血管腔體，且在研磨試片時這些在血管腔內的物質極容易被水沖掉，因此若想量測到化石裡的有機殘留物的話，那就不能使用橫切的方式進行。為了能提高偵測的靈敏度我們改變化石試片的製作策略，並請中心同仁江正誠先生（已退休）嘗試沿著骨幹以縱切的方式進行切片的製作取代，並且將切片磨薄以儘量保持血管腔的完整度。同時在研磨試片的過程中不再用水清洗試片以避免將化石中的蛋白質洗掉，而改用無水酒精，如此蛋白質可在酒精的作用下凝聚在血管腔內。這樣的作法就可以使先前只有保留「一小段」的血管腔變成「一長段」的血管腔，可以提高血管腔中有機物的含量，同時也會提高量測到血管腔內物質的紅外吸收的訊號。我們透過同步輻射紅外顯微鏡的量測果然發現了保存在血管腔中的膠原蛋白及其它的蛋白質。

另外，江正誠在切片上沿著血管腔觀察到許多暗紅色的微小球狀顆粒。我們初步以顯微拉曼光譜量測，因化石內的成分被雷射光所激發出來的螢光訊號過強，幾乎蓋過化石中球狀顆粒的拉曼訊號。為了解決螢光的問題，我們利用雷射光激發在化石中的螢光物質並進行 2 個小時光漂白 (Photo-bleach) 作用，將化石中的螢光物質漂白後才證實這些深紅色微小顆粒是赤鐵。

一般骨骼的主要成分是氫氧基磷灰石 (Hydroxyapatite) 和膠原蛋白 (Collagen)，膠原蛋白與一般的蛋白質在特徵紅外光譜基本上相似且重疊，但有兩處特徵吸收不一樣，所以我們必須從這兩個特徵去判斷。化石裡面的磷灰石大概是在波數 $900-1100\text{ cm}^{-1}$ 之間會有明顯的吸收，而膠原蛋白的特徵吸收是在波數 1637 cm^{-1} 及 1245 cm^{-1} 附近，



祿豐龍肋骨化石。

與上述在波數 $900-1100\text{ cm}^{-1}$ 之間的吸收是完全錯開的。另外，關於骨骼化石中碳酸鹽類的形成，除了原生的碳酸鹽之外，基本上的來源是空氣裡面的二氧化碳溶在水裡面變成碳酸並慢慢的滲透到骨骼中，所以當骨骼中的水蒸發掉，經年累月之下留在骨骼中的碳酸會形成碳酸鹽 (Carbonate)，例如碳酸鈣最後在骨骼結構內形成碳酸鈣化的氫氧基磷灰石 (Carbonated Hydroxyapatite)，同時也會在骨骼的空腔中形成再結晶的方解石 (Calcite)。我們收集的化石樣品基本上碳酸鹽的再結晶情況很少，但量測的時候還是會觀察到碳酸鹽。紅外光譜分別提供這 3 個不同物種的特徵吸收，訊號剛好是完全錯開，所以研究團隊才得以確認化石內含有膠原蛋白的重大發現。

合作無間的研究團隊

2013 年發表的那篇有關發現最古老的恐龍胚胎化石與有機殘留物的文章，不僅上了 Nature 期刊，並獲選為封面故事引起很大的關注，但也因此衍生出在中國取得化石的合法性問題。因此在這個工作中，黃大一教授邀請了前法務部長也是財團法人向陽公益基金會的董事長廖正豪博士加入古生物研究團隊，解決了在當地進行古生物的野地考察的法律問題。基本上鑑定化石中的紅血球、赤鐵、碳酸鈣化氫氧基磷灰石或膠原蛋白均可利用紅外光束線上的紅外實驗站和拉曼光譜顯微鏡即可藉由其光譜特徵吸收來鑑定，但這其中化石試片的製作沒有我們想像中的容易，負責試片製備的江正誠先生就扮演相當重要的角色。

當初江正誠將骨頭切開時發現血管中的暗紅色的微小球狀顆粒，一度懷疑會不會是恐龍的紅血球。為了進一步確認血管中的暗紅色的微小球狀顆粒的三維形貌，國輻中心王俊杰博士則是利用穿透式 X 光顯微鏡來進行血管中微小球狀顆粒的 3D 結構掃描，結果發現這暗紅色的球狀顆粒並非紅血球，而我們結合顯微拉曼光譜的成分分析後，認為是晶型如同玫瑰花瓣一樣的赤鐵微晶結構 (Hematite Microcrystal)。

國輻中心生命科學小組的黃佩瑜小姐與光束線經理陳慶日先生負責紅外顯微光譜的量測、建立紅外光譜影像、維持實驗站正常的運作與對光。透過紅外光譜影像我們觀察到的成分，包括膠原蛋白、赤鐵及碳酸鈣化氫氧基磷灰石。但是有一些封存在骨細胞凹陷的物質，紅外光譜量不出來，拉曼也量不出來，我們推測成分為赤鐵，後來跟當時在交通大學分子科學研究所李遠鵬教授的實驗室擔任博士後研究員的鍾昭宇博士聯繫，當時鍾博士負責一套可以量測瞬時吸收光譜的顯微鏡，我問：「這可以量赤鐵的訊號嗎？」，他回：「可以」。結果我們一量，肋骨化石試片中血管腔及骨細胞凹陷裡面也都是赤鐵的訊號，也是論文上第一張大面積赤鐵分布的光譜影像。

為了要驗證這是血紅素中的鐵離子所產生的赤鐵，我們做了一個很瘋狂的實驗。我們抓來一隻雞，在缺氧及沒有放血的條件下處理了雞，張榮森教授將雞大腿骨用烘箱加熱到 1200°C ，江正誠先生將雞骨頭製作成切片，顯微鏡下觀察到血管腔中就有殘留有暗紅色的微小顆粒，利用顯微拉曼光譜分析果然是赤鐵，這給我們很大的信心繼續往血紅素的方向去解釋赤鐵礦聚晶的成因，不過這段故事我們並沒有寫進論文中。

另外，當我們論文提交出去送審時，評審也懷疑，原本化石的埋藏點都是紅土，紅土也是針鐵 (Goethite) 啊！到底針鐵有辦法變成赤鐵嗎？後來去查詢一些文獻，發現如果要從針鐵變赤鐵，環境必須在 10 大氣壓 及高溫 220°C 以上才有辦法轉換，若當時的化石是在這樣的極端環境，我想當地應該是寸草不生了吧！

我們團隊中的 Robert R. Reisz 教授主要是負責地質與化石年份的確認，這是很重要的工作，如果我們拿到的化石是在其他地層，那整個研究所涉及到的年份就都不對了。在論文中當初我提出一個想法，就是剛剛提到蛋白質為什麼會經過億萬年後仍保存在血管腔中？我提出水泥理論 (cemenation)，其形成的過程就是我剛剛談到的碳酸鈣滲到骨頭中並滯留在骨質中，如此不斷的滲透與乾燥並滯留在骨質中，就會形成碳酸鈣的保護層。骨質中的血管腔被碳酸鈣包覆起來，所以外面東西進不去，就像水泥把血管腔封住一樣。當初我在提這個理論的時候，有與中興大學榮譽教授黃大一討論，他也覺得是蠻不錯的概念，所以我們就決定將水泥理論寫到論文裡面。

當然，整個研究成果還有一個很重要的因素在裡面，我們團隊的成員有很細的分工，而且大家合作得很愉快，合作愉快才是最重要的重點與成果。

尖端的研究利器

我們的研究成果主要是用台灣光源紅外顯微術實驗站 (TLS 14A1) 和穿透式 X 光顯微術實驗站 (TLS 01B1)，其中 TLS 14A1 實驗站的主要工作是做骨質成分的鑑定，利用同步輻射紅外線的高空間解析及快速的數據擷取，分析骨質成分的碳酸鈣化氫氨基磷灰石與膠原蛋白；而 TLS 01B1 實驗站的主要貢獻是提供奈米解析的赤鐵聚晶與骨細胞凹陷的三維結構。該實驗站不僅提供三維不同角度的高解析度影像，更可以將由血紅素降解的赤鐵微晶結構解析的更清楚。

未來挑戰

在研究過程中，我認為比較困難的是在超薄化石試片的製備，這真的是一大挑戰。我們中心之前的樣品製備都靠江正誠先生，他現在已經退休了。這其實是一個人才斷層的問題，因為沒有人可以做出跟他一樣品質的化石薄片，所以未來如果沒有這方面技術的人員能夠持續幫忙做這類樣品的試片，基本上部分的研究可能無法再進行下去。目前中心古生物計畫中大部分的技術都需將化石樣品製備成薄片才能去量測，紅外光譜顯微術及穿透式 X 光顯微術實驗站都是如此。因為試片研磨技術的養成是需要時間與經驗的累積，不容易在短時間就可以做得那麼好。所以我認為這不僅是我們研究遇到的問題，未來如果古生物研究要延續的話，這是非常重要的環節。

我想對年輕人說的話

我經常跟助理及學生們談論建立科研基礎能力的時間點問題，年輕人要趁早投資自己，在對的時間做對的事並勇於面對挑戰跟困難。趁年輕建立紮實的基礎科學能力、學習新技能的能力、與不同領域的人對話及語文能力。另外，擁有撰寫程式語言的能力對於從事科學數據的分析與建立創新的理論模式有很大的助益，利用程式語言可以協助自己在建立新的概念與想法時，進行有效率的驗證與分析，同時撰寫程式能產生表現概念的數據及圖像，有助於進行有效率的概念除錯或修改。

另外我還建議趁年輕要培養創新的能力。我在博士生的時候，每位博士生要輪流報告一件在實驗上的新發現、創新的實驗方法、或科學理論缺點的改良。通常在實驗室進行科學的試驗時，有許多時間是在進行重覆的實驗程序，很多試驗的過程可能都被「自以為是」的視為「理所當然」忽略了，從這樣的角度進行實驗將可能導致過程中的某些實驗參數的設定被視為理所當然而輕忽了它的重要性，因此不易找出新的理論或實驗模式出來。不要受限於既有的實驗限制與想法，要脫離陳舊的想法與巢臼，以這樣的心態去看待研究的過程，在未來的日子會漸漸的培養出創新的思維邏輯。



第三屆光環論文獎頒獎典禮合影。