

# 贝壳珍珠层微结构及成因理论

张刚生 谢先德

(中国科学院广州地球化学研究所,广州 510640)

**【摘要】** 珍珠层是由多边形文石板片和少量有机质( $<5\%$ )组成的具微层理的结构单元,可分为砖墙型和堆垛型两种类型。珍珠层中文石板片晶体的结晶学方向、粒径及形貌等严格受到控制,呈现出高度有序的结构。珍珠层的形成与软体动物的生理活动有关,目前珍珠层的成因理论主要有:与外套膜的外上皮细胞年龄有关;细胞内结晶细胞外组装说;隔壁说;矿物桥说及模板说等。

**【关键词】** 贝壳珍珠层;微结构;成因理论  
中图分类号:P588.24<sup>+</sup>8 /文献标识码 A

## 0 前言

珍珠层是软体动物贝壳中普遍发育的一种结构单元,尤其在双壳类、腹足类及头足类的贝壳中最为发育,部分种类可用来培育经济价值较高的珍珠,因此对其进行成因研究可为培养人工珍珠,提高珍珠质量提供依据;此外,珍珠层是一种优异的人体相容生物材料,能刺激人体受损伤骨的生长<sup>[1]</sup>;珍珠层结构优美,力学性能独特,其破裂韧度比无机成因文石逾3个数量级,其矿化机理为制造高级有机-无机复合材料提供了依据<sup>[2~5]</sup>。

## 1 珍珠层的结构

成年软体动物贝壳结构类型较多,较典型的一

类结构模式如图1所示,壳具三层结构,最外层称为表壳层(periostracum),主要由硬化蛋白质组成,厚度极薄;中层称棱柱层(prismatic layer),由(001)定向的柱状方解石组成;内层称珍珠层(nacre),由文石板片组成,也是本文讨论的重点。一般认为,贝壳的形成直接与软体动物的外套膜的生理活动有关。文石板片是珍珠层的最基本结构单元,一般多呈假六边形、浑圆形、菱形及不规则多边形等。在不同种类的软体动物中,小板片的粒度变化不大<sup>[6~14]</sup>,一般直径 $2\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ ,厚 $0.5\mu\text{m}\sim 0.7\mu\text{m}$ 。板片在二维方向上排列形成微层,进而形成了珍珠层。在珍珠层中,总量(重量比)只占 $1\%\sim 5\%$ 的薄层有机质充填于无机相之间<sup>[15,16]</sup>,正是这微量的有机质控制了珍珠层的形成,并使其具有无可比拟的力学性能。

### 1.1 珍珠层的结构类型

根据文石板片堆砌方式的不同,珍珠层可明显

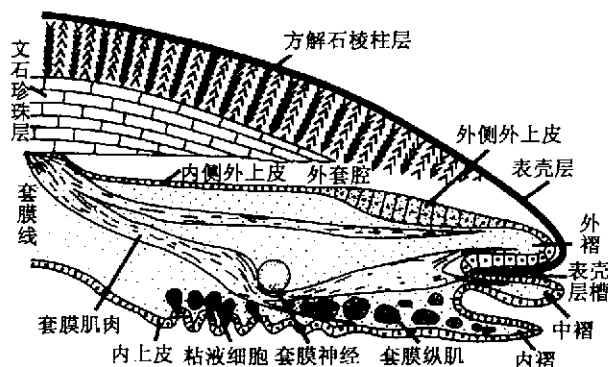


图1 双壳类壳边缘剖面图<sup>[5]</sup>

Fig. 1 Cross-section of outer margin of bivalve shell

分为两类:砖墙型(brick-wall)及堆垛型(stack-up) (图2)。

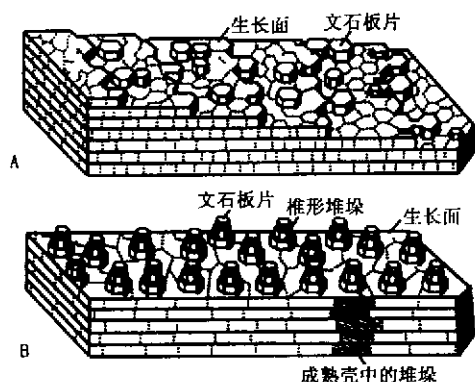


图2 珍珠层结构类型示意图

A: 砖墙型; B: 堆垛型<sup>[5,6]</sup>

Fig. 2 Schematic representation of types of nacre structure

A. brick-wall type; B. stack-up type

**砖墙型:**在双壳类中发育,其生长面上显示了典型的叠瓦式生长形貌,每一微层以类似步阶的方式互相重叠,新生长的晶体沉积在步阶的边缘,晶体在横向上生长逐渐与微层聚合而使微层结构在横向上扩展。在纵剖面上,上下微层中的板片的中心位置无规则排列。

**堆垛型:**在腹足类中发育,其生长面呈锥形堆垛形貌,新生的晶体形成于每一锥形堆垛的顶端,然后横向生长,同时更新的晶体在顶端形成,较老的晶体在横向上继续生长使堆垛保持锥形形貌,横向生长最终使邻近堆垛的晶体接触,这些晶体相接形成了珍珠层的微层。在堆垛型珍珠层中,上下微层的文石板片沿层的生长方向规则排列(图2B中的阴影区),其中心位置有一定的偏移,但偏移较小(20 nm ~ 100 nm)。

据 AFM 研究<sup>[12]</sup>,砖墙型(双壳类 *Atrina* sp)中文石小板片并不是完全平整的,常呈凹形,中心凹陷的深度最大可达 500 nm,板片上分布有众多的同心矩形环,其长短轴之比为 5 : 8(与文石晶胞的  $a : b = 0.485 \text{ nm} : 0.795 \text{ nm}$  相近);堆垛型(腹足类 *Haliotis rufescens*)中文石小板片虽然也呈凹形,但较平整,表面无矩形环。证实了砖墙型和堆垛型珍珠层除了在宏观上不同之外,微观上亦存在差别,显示了其成因的特殊性。

## 1.2 文石板片的结晶学定向及取向畴

几乎所有的文献都认为,不同种类软体动物的珍珠层中,文石板片的  $c$  轴皆垂直珍珠层面, $a, b$  轴平行层面<sup>[9~14]</sup>。但关于珍珠层中不同文石板片  $a, b$  轴之间的关系仍未取得一致意见。

Manne 研究结果表明,双壳类 *Atrina* sp 珍珠层中不同板片的  $a, b$  轴在横向上和垂向上皆定向排列,即整个珍珠层中所有板片的结晶学方向一致,类似一个单晶;腹足类 *Haliotis rufescens* 珍珠层中文石板片的  $a, b$  轴呈取向畴结构,在同一锥形堆垛中,上下微层中的文石板片的结晶学轴一致,定向排列而构成一个取向畴,但在不同堆垛中的文石板片  $a, b$  轴方向不同<sup>[14]</sup>。冯庆玲(1995)在研究皱纹冠蚌时发现,在同一微层中不同板片的  $a, b$  轴皆不相同,但在垂直于层面方向上相邻的 3~10 个板片的  $a, b$  轴排列方向相同而构成一个取向畴,即同一畴中板片的结晶学方位完全一致,不同畴中板片的结晶学方位不一致。

最近,本文作者在研究淡水三角帆蚌珍珠层时,发现文石小板片除了具有公认的  $c$  轴垂直于层面外,还发现其  $[012]$  轴垂直层面,且在同一壳的不同位置,两种取向和相对强度存在变化,关于其可能的形成机制尚在研究之中。

总之,人们对贝壳珍珠层中的文石晶体的结晶学取向的规律性仍缺乏足够的认识,还有待于进一步的工作。

## 2 形成机制

### 2.1 与外套膜外上皮细胞年龄有关

从贝壳及套膜的断面图(图1)可以看出,壳边缘由方解石棱柱层组成,较内侧由珍珠层组成。由于套膜的外上皮是由壳褶处分分泌演化而成,因而壳边缘处的外上皮(与棱柱层位置相对应)细胞年龄较轻,越往壳内部,细胞年龄越老。因此较早的理论即认为外套膜外上皮外缘长柱状细胞与棱柱层有关,

较内侧较老的外上皮细胞呈立方形,与珍珠层形成有关,这种观点到目前一直沿用<sup>[5,7]</sup>。

## 2.2 细胞内结晶细胞外组装说

软体动物壳成因的经典理论认为,套膜细胞分泌有机质、离子等成壳前驱物,这些前驱物在套膜和表壳层之间的外套腔经一系列相互作用结晶沉淀而形成了壳。Huang 在研究 *Cristaria plicata* 的成壳机制时,发现 a) 在套膜外上皮细胞的囊泡(vesicles)中存在低密度的钙颗粒; b) 珍珠层内表面(朝套膜一侧)初生的珍珠层中,珍珠层的结构是很不完善的,定向排列较差,但整个珍珠层是高度定向的<sup>[17]</sup>。因此作者认为,上皮细胞中的囊泡为珍珠层中文石的初始成核位置,然后被囊泡等输送出细胞外形成珍珠层。Arnold 通过对 *Nautilus belauensis* 胚胎的 SEM 研究,发现,“原-方解石棱柱体(proto-prisms)”和“原-文石板片(proto-tablets)”形成于套膜细胞内的囊泡中(vacuoles),然后被输送至细胞外表面组装成壳的棱柱层或珍珠层<sup>[18]</sup>,从而证实了 Huang 的观点,虽然有关这种过程的详细机制仍有待于进一步研究,但其充分说明了珍珠层形成的复杂性。

## 2.3 隔室说

其基本前提是有机质预先形成隔室(compartment),晶体在隔室中成核生长,隔室的形状限制了晶体的形状。

对正在生长的珍珠层去钙化及染色后,有机质显示出一系列由平行层面的有机板片(sheet,相当于 IM)在垂直层面上间隔排列,而正在生长的文石晶体总是被一薄层有机质包覆物(envelope,相当于 SM)覆盖(图 3),晶体结晶只限于两层 sheet 之间的空间中<sup>[8]</sup>。据有机质的氨基酸分析, envelope 中 Asp 含量较高, sheet 中 Gly 及 Ala 含量较高<sup>[7]</sup>。因此, Nakahara (1979, 1982) 认为,套膜细胞分泌的有机基质中呈纤维状的 sheet 组成隔室,在隔室中 envelope 中的酸性基团键结钙离子并诱导晶体生长,在垂向上碰到 sheet 及在横向上碰到相邻晶体时,晶体便停止生长,最终形成了珍珠层的层状结构<sup>[7]</sup>。Heure 综合了前人的研究成果,还对隔室说进行了系统总结<sup>[3]</sup>。

## 2.4 矿物桥说

Watabe 等在对双壳类珍珠层的研究中并没有发现预先形成的隔室,当晶体随着生长而与其他晶体接触时,有机质当然会夹在晶体中间,当此时用化学试剂溶去钙质后,有机基质会显示出包壳的构型并围绕在晶体周围,从而给人一种错误的“隔室”的

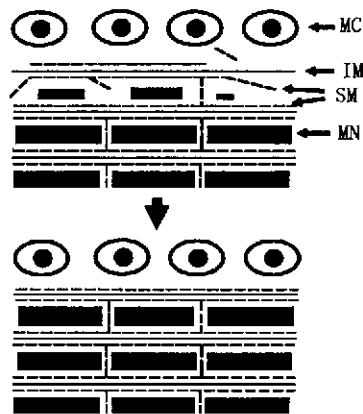


图3 珍珠层形成的隔室模式示意图<sup>[3]</sup>

MC: 套膜细胞; IM: 水不可溶有机质; SM: 水可溶有机质; MN: 文石板片

Fig. 3 Schematic figure of nacre formation controlled by compartment

假象。Watabe 认为,晶体可以在已经生成的晶体上继续发育,可能通过微层间的基质的网孔进行交生,并通过幕间沉积的方式形成珍珠层<sup>[10]</sup>。Shaffer 通过深入细致的工作,认为这种假设是正确的,并正式提出了珍珠层形成的矿物桥理论<sup>[13]</sup>。他的主要证据有:

a) 堆垛型珍珠层中同一堆垛中的不同微层的文石板片在原子级上是连续的,为一个单晶体<sup>[12]</sup>。

b) 在对褶纹冠蚌珍珠层(砖墙型)的研究证实,在垂直层面方向上 3~10 个相邻的连续文石板片具有相同的结晶学方位,即珍珠层中存在文石结晶学畴结构<sup>[19]</sup>。

c) TEM(透射电子显微镜)、AFM(原子力显微镜)及 SICM(扫描离子导电显微镜)证实在微层间有机质板片中存在纳米级孔隙<sup>[7,8,13]</sup>。

d) 同一堆垛中相邻文石板片中心位置的水平偏移与层间有机质中孔隙的偏移(间隔)是一致的。

“矿物桥”理论认为,通过层间有机板片的孔隙,文石晶体保持生长(图 4),每一个新成核的文石小板片朝套膜方向垂直生长,直到碰到另一层层间基质板片,此时垂直生长才会终止,然后小板片横向生长形成新的小板片。在堆垛型珍珠层中,垂直生长的速度约是横向生长的两倍,表明一个新成核的小板片沿 c 轴方向生长最快,一旦正在生长的板片碰到板片上方邻近的层间基质中的孔隙时,它将象一个矿物桥一样穿过孔隙使一个新的小板片结晶生长;相对于下伏板片而言,这个新的板片存在一个横向偏移,当较老的板片横向生长时,在新老板片间形成

更多的矿物桥,这将使得板片在较多位置上同时生长。然而,在使新的板片成核时,第一个矿物桥起了最关键的作用。

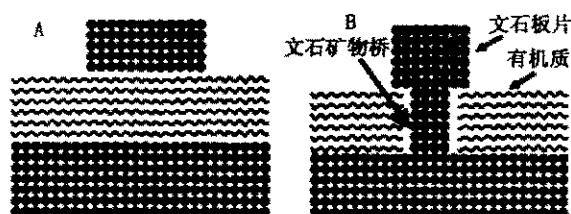


图4 珍珠层的取向附生(A)和矿物桥生长模式(B)示意图比较(据 Schaffer, T E 等, 1997)<sup>[13]</sup>

Fig. 4 Sketch of heteroepitaxial nucleation and nucleation through mineral bridge

(from Schaffer, et al., 1997)

## 2.5 模板说

Weiner (1975)在研究贝壳有机质生物化学组成时,推断其可溶有机质中存在高比例的(Asp-Y)n-(Y:表示 Ser 或 Gly)序列,如果蛋白质采用 $\beta$ -叠片构型,则蛋白质中的 Asp-Asp 残基间距离(0.695 nm)正好与文石(或方解石)中的  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Ca}^{2+}$  距离(0.3nm~0.65 nm)相近,因而认为可溶有机质可能为无机相结晶提供模板,首次正式提出了珍珠层成因的模板说<sup>[20,21]</sup>。模板说认为,当无机相的某一面网的结晶学周期正好与带活性基团有机基质的结构周期相匹配时,会降低无机相晶体的成核活化能并诱导晶体沿该面网方向生长,从而导致晶体呈有序定向的结构。

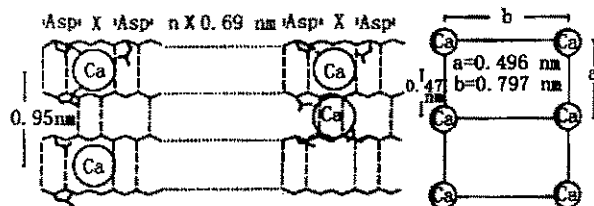


图5 文石(001)面网的  $\text{Ca}^{2+}$  和富含 Asp 残基的酸性可溶蛋白质(呈 $\beta$ -叠片构型)之间的结构周期的互补性<sup>[21]</sup>

A.  $\text{Ca}^{2+}$  和 Asp 残基的可能键接模式; B. 文石(001)面网的结晶学参数

Fig. 5 Possible mode of molecular complementary between  $\text{Ca}^{2+}$  atoms in the (001) face of aragonite and acidic protein rich in aspartic acid residues.

A. possible model of  $\text{Ca}^{2+}$  and aspartic acid residues; B. crystallographic parameter in the (001) face of aragonite

模板说较好地解释了珍珠层的结构特征。在珍珠层形成过程中,不溶有机质(几丁质及丝蛋白类似物)形成有序的结构(其层面平行珍珠层面),它们为一些憎水大分子,为文石提供结晶骨架,可溶有机质(酸性糖蛋白)富含阴离子基团(羧酸、磷酸和/或硫酸基团等),它们可键结钙离子,并为文石结晶提供模板。可溶有机质和不溶有机质由介于它们两者之间的碱性蛋白质(Anchor protein)<sup>[22]</sup>连接一起组成有序的有机基质,由于文石的(001)面网的结晶学周期(即 a, b)轴正好与有机基质的结构周期相适应,因而诱导文石晶体沿(001)面网方向成核(图5),最终导致珍珠层中所有的文石小板片的 c 轴垂直于珍珠层面;此外,当可溶有机质单独存在溶液中时,同样由于晶格匹配而选择性地吸附于文石的(001)面网上从而会抑制文石沿垂直该面网方向的生长<sup>[23]</sup>,结果使文石晶体均成板片状,形貌得到较好的控制。

## 3 讨论

以上有关珍珠层成因的理论皆是不同的作者采用不同的研究方法,通过对珍珠层不同方面的侧重点研究而得出的结论,虽然从某种程度上解释了各自所观察到的一些现象。但至今为止,没有一种理论能完全解释所观察到的所有现象,它们都存在较大的争论。

珍珠层的结构已在前面作了较详细的讨论,它最大的特点是:1)无机文石晶体定向排列;2)晶体形

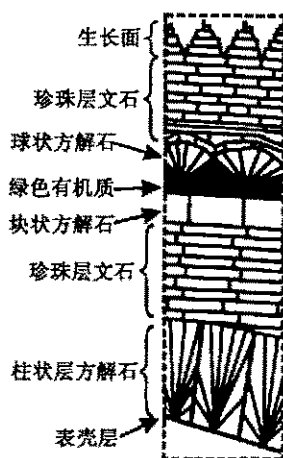


图6 红鲍鱼 *Haliotis rufescens* 壳的剖面示意图<sup>[14]</sup>

Fig. 6 Section of *Haliotis rufescens* shell

貌及粒径严格受到控制;3)珍珠层的文石和棱柱层中的方解石之间的过度界限是突变的,两者不会在同一空间出现,即碳酸钙矿物的多型严格受到控制。因此任何一种理论都必须首先回答上述三个问题。

通过一些壳的再生实验及在外套腔中插入无机基质(如盖玻片)的实验证实<sup>[14,24]</sup>,原来与珍珠层或棱柱层位置并列的外上皮细胞同样能分泌出与

贝壳结构同样的序列,即有机质→棱柱层→珍珠层;Zaremba 还发现 *Haliotis rufescences* 壳中的珍珠层中不规则间隔地插入有有机质及方解石薄层(图6)<sup>[14]</sup>,它们和文石微层是由同样的外上皮细胞引起的。以上事实说明了贝壳形成与套膜细胞年龄有关这种理论的局限性,此外它对文石和定向结晶等没有给出回答。实际上,外上皮细胞控制贝壳的形成是通过其分泌的有机质来控制的,当受到某种信号时,相同的外上皮细胞会分泌不同的有机质,从而形成不同成分和结构的壳体。

隔壁说是基于对珍珠层的结构的观察而得出的结论,它有效地解释了珍珠层的层状结构的成因,但对文石晶体的定向生长及受控成核及贝壳中的碳酸钙多型的控制等问题缺乏解释;此外有些作者认为晶体和有机质是同时形成的,因此该理论是不完善的。

矿物桥理论主要是基于对腹足类的堆垛型珍珠层的结构的研究基础上提出的,对砖墙型珍珠层是否适用还有待于进一步工作,作者认为珍珠层中的文石晶体借助矿物桥进行生长进而保持晶体结晶学定向的一致性只能是珍珠层生长的一种机制,有机质的控制作用亦是至关重要的。

模板理论是至今为止唯一试图从分子水平上解释珍珠层的形成机制,该理论的重点是在于对珍珠层中有机质的深入了解,但由于有机质结构复杂,含量极低,因此现在常用采用 EDTA 或醋酸 HAC 从珍珠层中萃取的有机质与套膜新分泌的有机质是有区别的,弱酸萃取会导致有机质变性的程度也是值得考虑的一个问题等等;再者,模板理论中的对蛋白质的一级和二级结构均是基于间接的观察而推断的,现代分子生物研究的几个较完整的蛋白质序列(文石珍珠层中的 nacrein 方解石层中的 MSP-1)<sup>[25,26]</sup>中的确存在富 Asp 的酸性域,可链接  $\text{Ca}^{2+}$ ,但并不呈  $(\text{Asp-Y})_n$ -(Y:表示 Ser 或 Gly)序列,同时贝壳中有机质的现代分子生物研究还证实,有机质蛋白质除了链接  $\text{Ca}^{2+}$ 和作为无机相结晶的骨架之外,还具有酶蛋白的特点<sup>[25,27]</sup>,因此有机质对珍珠层形成的控制作用需要重新认识。模板说对珍珠层中的文石晶体的受控成核、形貌及结晶学定向控制等问题给出了很好的解释,但对有机质对碳酸钙多型、珍珠层中文石的结晶学定向畸等的控制无法作出解释。无论如何,模板说的理论体系是比较完善的,随着珍珠层中有机质研究的深入,相信有关的问题将会得到解决。

## 参考文献

- Westbroek P, Marin F. A marriage of bone and nacre [J]. *Nature*, 1998, 392(30): 861~861.
- Curry J D. Mechanical properties of mother of pearl in tension [J]. *Proc R Soc Lond*, 1977, 196B:443~463.
- Heuer A H, Fink D J, Laria V J, et al. Innovative materials processing strategies [J]. *Science*, 1992, 255(28): 1 098~1 105.
- Bond G M, Richman R H, Nonaughton W P. Mimicry of natural material designs and processes. *J Mater Eng Perform*, 1995, 4(3): 334~345.
- 戴永定. 生物矿物学[M]北京:石油工业出版社,1994.
- Wise S W. Microarchitecture and deposition of gastropod nacre [J]. *Science*, 1970, 167(13): 1 486~1 487.
- Nakahara H, Bevelander G, Kakei Mitsuo K. Electro microscopic and amino acid studies on the outer and inner shell layers of *Haliotis rufescens* [J]. *VENUS*, 1982, 41(1): 33~46.
- Nakahara H. An electro microscope study of the growing surface of nacre in two gastropod species *Turbo cornutus* and *Tegula pfeifferi* [J]. *VENUS*, 1979, 38(3): 205~211.
- Gutmannsbue? W, H? nn( H A. Structural and chemical investigation on shells and pearls of nacre forming salt-and fresh-water bivalve molluscs [J]. *J Gemm*, 1994, 24(4): 241~252.
- Watabe N. Crystal growth of calcium carbonate in invetebate [J]. *Prog Crystal Growth Charact*, 1981, 4: 99~147.
- Watabe N. Studies on shell formation XI. crystal-matrix relationships in the inner layers of mollusk shells [J]. *J Ultrastruc Res*, 1965, 12: 351~370.
- Manne S, Zaremba C M, Giles R, et al. Atomic force microscopy of the nacreous layer in mollusk shells [J]. *Proc R Soc Lond*, 1994, 256B: 17~23.
- Schäffer T E, Zanetti C I, Proksch R, et al. Does abalone nacre formed by heteroeopitaxial nucleation or by growth through mineral bridge? [J]. *Chem Mater*, 1997, 9: 1 731~1 740.
- Zaremba C M, Belcher A M, Fritz M. Critical transition in the biofabrication of abalone shells and flat pearls [J]. *Chem Mater*, 1996, 8: 679~690.
- Marxen W. The organic shell matrix of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1997, 118B

- (1), 23~33.
- 16 Halloran B A, Donachy J E. Characterization of organic matrix macromolecules from the shells of the antarctic scallop, *Adamussium colbecki* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1995, 111B(2); 221~231.
  - 17 Huang L J, Li H D. Observation of the phase transition in the growth of a biomineralized calcium carbonate [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 176(2): 654~659.
  - 18 Arnold J M. *Nautilus* embryology: a new theory of molluscan shell formation [J]. *Biol Bull*, 1992, 183: 373~374.
  - 19 冯庆玲, 崔福斋, 李恒德. 贝壳珍珠层中文石晶体的取向畴. 生物及环境材料(中国材料研究学会编). 北京: 科学出版社, 1997.
  - 20 Weiner S, Hood L. Soluble protein of organic matrix of mollusk shells: a potential template for shell formation [J]. *Science*, 1975, 190(5): 987~988.
  - 21 Weiner S, Traub W. Macromolecules in mollusc shells and their function in biomineralization [J]. *Phil Trans R Soc Lond B*, 1984, 304: 425~434.
  - 22 Bowen C E, Tang H. Conchiolin-protein in aragonite shells of mollusks [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1996, 115A(4): 269~275.
  - 23 Weiner S, Addadi L. Acidic macromolecules of mineralized tissues: the controllers of crystal formation [J]. *TIBS*, 1991, 16: 252~256.
  - 24 Fritz M, Belcher A M, Radmacher M, *et al.* Flat pearls from biofabrication of organized composites on inorganic substrates [J]. *Nature*, 1994, 371(1): 49~51.
  - 25 Miyamoto H, Miyashita T, Okushima M, *et al.* A carbonic anhydrase from the nacreous layer in oyster pearls [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 9 657~9 660.
  - 26 Sarashina I, Endo K. Primary structure Of a soluble matrix protein of scallop shell; implications for calcium carbonate biomineralization [J]. *American Mineralogist*, 1998, 83: 1 510~1 515.
  - 27 Shen X Y, Belcher A M, Hansma P K, *et al.* Molecular cloning and characterization of lustrin A, A matrix protein from shell and pearl nacre of *haliotis rufescens* [J]. *J Bio Chem*, 1997, 272(51): 32 472~32 481.

## UTRASTRUCTURE AND FORMATION THEORY OF NACRE SHELLS

ZHANG Gang-sheng      XIE Xian-de

(Guangzhou Institute of Geochemistry, CAS, Guangzhou 510640)

**Abstract** Nacre with microlaminate structure is composed of polygonal tablet of aragonite and minor organic matrix (<5%). The growing surface of nacre can be divided into two types: brick-wall type and stack-up type. In nacre, the crystalline orientation, size and morphology of aragonite tablet are strictly controlled. It is generally accepted that the formation of nacre is closely associated with mollusc metabolism. At present, such theories as "compartment", "mineral bridge" and "template" are used to explain the formation mechanism of nacre.

**Key words** nacre shell; ultrastructure; formation theory