

特约综述

文章编号: 1008-9357(2018)06-0501-12

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20180424003

蚕丝和蜘蛛丝多级结构对力学性能的影响

张鸿昊, 林乃波, 刘向阳

(厦门大学材料学院生物材料系; 生物仿生及软物质研究院;
福建省柔性功能材料重点实验室, 福建厦门 361005)

摘要: 家蚕丝和蜘蛛丝具有力学性能优异、生物可相容和生物可降解等诸多优点。本文阐述了蚕丝和蜘蛛丝的一级结构、二级结构、 β -折叠晶体网络(纳米纤维)结构及其形成过程, 综述了丝蛋白亲疏水域、分子量和晶体网络结构对力学性能的影响。其中, 晶体网络结构的强度是影响力学性能的关键, 由拓扑结构、相关长度、取向度和连接(或者相互作用的强度)这4个因素决定。本文为力学性能的控制及提高提供了指导。

关键词: 蚕丝; 蜘蛛丝; 多级结构; 力学性能

中图分类号: TS149

文献标志码: A

Effects of Multi-level Structure of Silk and Spider Silk on Mechanical Properties

ZHANG Hong-hao, LIN Nai-bo, LIU Xiang-yang

(Department of Biomaterials, College of Materials; Research Institution for Biomimetics and Soft Matter; Fujian Key Provincial Laboratory for Soft Functional Materials Research, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: Bombyx mori silk and spider dragline silk have many advantages such as excellent mechanical properties, biocompatibility and biodegradability. Compared with bombyx mori silk, spider dragline silk has more excellent comprehensive mechanical properties. However, spiders cannot be raised and spider silks cannot be launched into mass production. The mechanical difference between two kinds of fibers could be caused by the multi-level structure. This article describes the primary structure, secondary structure, β -crystal network (nanofibril) structure and the formation process of multi-level structure of the bombyx mori silk and spider dragline silk fibers. The effects of the hydrophobic and hydrophilic domain, molecular mass and crystal network structure on the mechanical properties of silk protein fibers are reviewed. Among them, the strength of the crystal network is the key to the mechanical properties, which is determined by four factors of topological structure, correlation length, degree of orientation, and strength of the connection or interaction. The summary of these four factors provides guidance for the

收稿日期: 2018-04-24

基金项目: 高等学校学科创新引智计划(B16029); 国家自然科学基金(51773171, U1405226); 福建省科技厅自然科学基金(2017J06019); 中央高校基本科研业务费专项资金(20720160088, 20720150218)

作者简介: 张鸿昊(1992-), 男, 福建建宁人, 硕士生, 研究方向为再生蚕丝材料。E-mail: 398772647@qq.com

通信联系人: 林乃波, E-mail: linnaibo@xmu.edu.cn; 刘向阳, E-mail: phyluxy@nus.edu.sg

control and improvement of the mechanical properties. Super strong silk fibers can be obtained by controlling the crystal network using regenerated silk fibroin protein or specific recombinant spider silk protein with genetic engineering technique as raw materials. Based on the concept of multi-level structure of bombyx mori silk and spider dragline silk, the crystal networks in particular, the new understanding acquired will transfer the research and engineering of protein fiber to a new phase.

Key words: silk; spider silk; multi-level structure; mechanical property

蚕丝作为一种天然纤维在中国已有 4 000 多年的历史,一直作为奢侈的纺织品原材料,是古代中国与其他国家或地区贸易的重要商品,闻名世界的“丝绸之路”是中国古代外交和社会繁荣的象征。相比于蚕丝,蜘蛛丝具有更加优秀的力学性能,即便与力学性能最优异的人造纤维相比也毫不逊色^[1],但是蜘蛛由于同类相食的特性无法大规模饲养,所以蜘蛛丝的商业化一直没法实现。由于蚕丝和蜘蛛丝具有优异的力学性能、生物相容性和可降解等优点,从 20 世纪开始,生物、化学和材料等领域的科学家就开始投入大量的精力对其进行研究。

蚕属于节肢动物门昆虫纲鳞翅目,有桑(家)蚕、柞蚕、蓖麻蚕、木薯蚕、柳蚕和天蚕等品种,其中桑(家)蚕的产量最大,对其研究最为广泛,本文除非特殊说明,所称蚕丝一般代指桑(家)蚕丝。蜘蛛属节肢动物门蛛形纲蜘蛛目,非昆虫。截至 2010 年底,全球已知蜘蛛 100 科、5 420 属、4 205 005 种,中国大陆有 67 科约 3.8×10^6 种,大多数的蜘蛛至少含有 6 种丝腺,如大壶状腺、小壶状腺、鞭状腺和聚状腺等,蜘蛛丝蛋白经由各自的通道,最终由丝疣之处拉出,不同丝腺分泌出的蜘蛛丝也具有不同的物理性质,以达成不同的功能或建构复杂的蜘蛛网。蜘蛛的大壶状腺丝包含随时都会牵引着的曳丝、蜘蛛圆网上的辐射状丝及骨架丝,必须能够承受较大的张力且不容易断裂,其物理性质偏向强且硬。

丝素蛋白纤维和蜘蛛大壶状腺丝均是具有多级结构的天然材料(如图 1 所示),两者优秀的综合力学性能与它们的多级结构有着密不可分的关系^[2-4]。丝素蛋白纤维和蜘蛛大壶状腺丝看似光滑的表面,其实是由许多有取向的纳米纤维束组成,纳米纤维束具有由 β -折叠晶体和无定形态的蛋白质相互连接构成的渔网状结构^[5-6], β -折叠晶体在渔网状结构中作为承载应力的节点,而无定形蛋白则像绳子一般将一个个节点(β -折叠晶体)连接起来,形成了一种既柔韧、强度又高的结构^[7]。研究丝素蛋白纤维和蜘蛛大壶状腺丝多级结构及其对力学性能的影响一直是该领域的热点,有诸多争议和不明确之处。

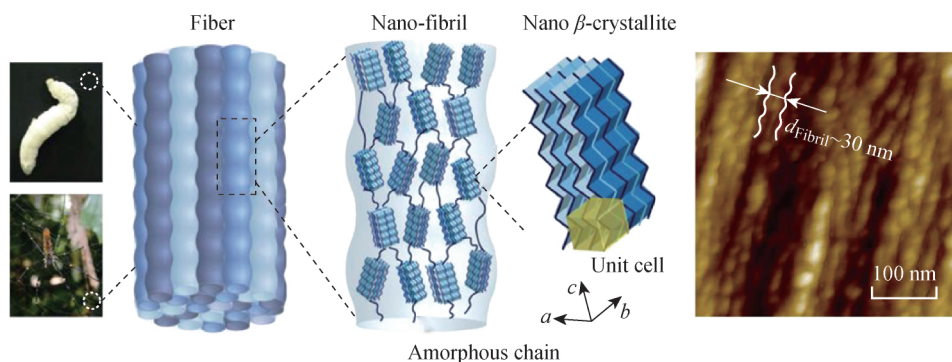


图 1 桑蚕丝素蛋白纤维和蜘蛛大壶状腺丝的多级结构示意图^[2]

Fig. 1 Sketch of multi-level structures of bombyx mori silk fibroin fiber and spider dragline silk^[2]

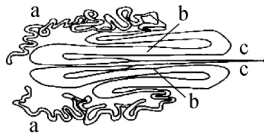
1 蚕丝和蜘蛛大壶状腺丝的形成过程及结构

1.1 蚕丝和蜘蛛大壶状腺丝的形成过程

蚕的丝腺结构如图 2 所示。丝素蛋白和丝胶蛋白都在丝腺当中合成,而丝腺又分为 3 个部分:细小而弯曲的后部,较宽的中部和前部。丝腺的后部合成丝素蛋白,即重链和轻链蛋白以及糖蛋白(P25),丝素蛋白随后从内腔被运输到丝腺的中部,此时丝素蛋白以一种不稳定的凝胶态存在直到这些丝素蛋白被用于纺

丝,而在丝腺的中部开始分泌出少量丝胶蛋白并逐渐在丝腺的前部达到分泌量的最大值,最终与丝素蛋白凝胶一起通过口器挤出形成纤维,丝胶蛋白把丝素蛋白纤维包裹在其中^[8-9]。丝素蛋白纤维直径为 10~18 μm ,是一种具有多级结构的天然纤维^[3]。

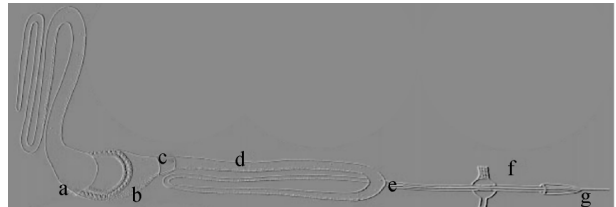
蜘蛛大壶状腺喷头如图 3 所示。蜘蛛大壶状腺由很长的尾部和很宽的液囊构成,尾部是分泌纺丝原液的主要部位,而液囊则是储藏纺丝原液的部位。大壶状腺蛋白在 A 区和 B 区合成,其中 A 区合成的蛋白质构成纤维的核心部分,B 区合成的蛋白质薄薄地包覆在纤维表面,随后通过漏斗状结构进入导管部分形成纤维,纤维经过瓣膜以后进入狭窄的管状区域快速吸水,最后通过喷丝口牵引而出^[10]。



a—Small and curved posterior of secretory part;
b—S-shape of middle secretory part; c—Narrow duct

图 2 蚕的丝腺结构^[9]

Fig. 2 Silk gland structures of silkworm^[9]



a—A zone; b—B zone; c—Funnel structure; d—Duct;
e—Valve; f—Tubular area; g—Spigot

图 3 蜘蛛大壶状腺喷头^[10]

Fig. 3 Spider dragline spinneret^[10]

1.2 蚕丝和蜘蛛大壶状腺丝的结构

蚕丝的结构及性能如图 4 所示。桑蚕吐出的蚕丝是由两根丝素蛋白纤维外面包裹一层丝胶蛋白黏结在一起所组成的,其中丝素蛋白纤维具有优异的力学性能而丝胶蛋白只是作为一种黏结物质存在^[11]。

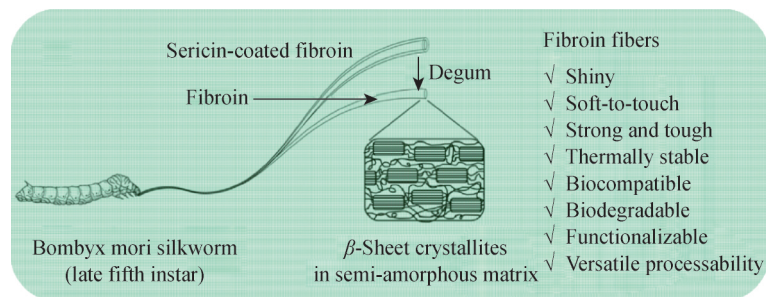
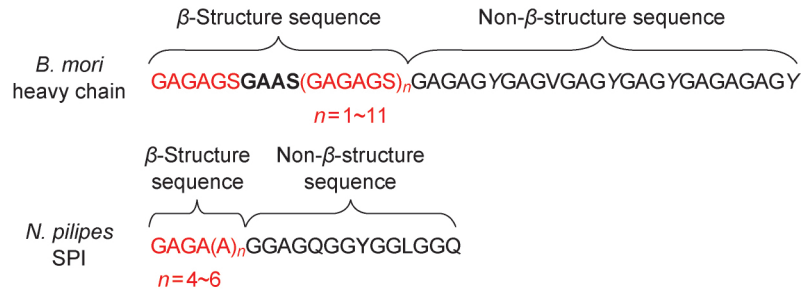


图 4 蚕丝的结构及性能^[11]

Fig. 4 Structure and properties of bombyx mori silk^[11]

图 5 所示是两种丝蛋白的一级结构^[3]。由于蛋白质分子中不同氢键作用造成不同的构象,形成了无规卷曲、 α -螺旋、 β -转角和 β -折叠等二级结构^[7]。丝素蛋白纤维由重链(重均分子量约 3.91×10^5)和轻链(重均分子量约 2.6×10^4)两种丝素蛋白以 1:1 的物质的量之比通过二硫键连接形成,重链带有 85 个残余的 C 端(C-terminal)序列,而轻链则在丝素蛋白纤维中扮演着一个不重要的角色。根据基因序列的推算,重链带有 5 263 个氨基酸残基,其中甘氨酸(Gly)总质量占有所有氨基酸质量的 45.9%,丙氨酸(Ala)占 30.3%,丝氨酸(Ser)占 12.0%,酪氨酸(Tyr)占 5.3%,缬氨酸(Val)占 1.8%,剩余 15 种氨基酸只占 4.7%。大部分氨基酸序列比较简单,形成了 2 377 个重复的 Gly-X(X 为 Ala、Ser、Tyr 等氨基酸,GX)二肽序列,而 GX 的重复序列是 β -折叠和纤维整体的基本构建单元。由于氨基酸序列中包含大量的 GX 重复序列,所以会形成能够引起 X 射线衍射的结构—— β -折叠晶体。重复序列 GX 中,X 为 Ala 占 64%(质量分数,下同),Ser 占 22%,Tyr 占 10%,Val 占 3%,苏氨酸(Thr)占 1%,而其他 14 种氨基酸则不在这种重复序列当中存在。相比于重复序列 GX,连接 2 个重复序列之间的氨基酸残基是非重复的,或者称作“无定形”,这一概念是相对于“结晶”而言的^[12]。

β -折叠晶体的生长过程如图 6 所示。 β -折叠晶体是以 β -折叠为模板,其他丝素蛋白分子在这个模板上形成一层新的 β -折叠,然后如此往复、一层层堆叠最终形成了 β -折叠晶体,该过程就是成核生长的过程^[7]。 β -

图 5 丝素蛋白重链和蛛丝蛋白的一级结构^[3]Fig. 5 Primary structure of silk fibroin heavy chain and spider silk protein^[3]

折叠晶体正交晶胞的晶格常数为 $a = 0.938 \text{ nm}$, $b = 0.949 \text{ nm}$, $c = 0.698 \text{ nm}$ 。丝素蛋白中的 β 结构可以用 $\text{GAGAGSGAAS(GAGAGS)}_n$, $n = 1 \sim 11$ 的重复氨基酸序列来表示^[2, 9, 12-13]。蛋白质可以分为无规卷曲 (random coil), α -螺旋 (α -helix), β -转角 (β -turn) 和 β -折叠 (β -sheet), 其中 β -折叠又可以分为平行 β -折叠和反平行 β -折叠, 各种二级构象在一定条件下可以发生相互转变^[14]。丝素蛋白作为一种半晶质材料, 其综合力学性能是由结晶区和非晶区共同决定的, 一般认为丝素蛋白优异的力学强度是由高度有序的 β -折叠以及由 β -折叠构成的结晶区所赋予的, 而非晶区, 包括无规卷曲、 α -螺旋和 β -转角则给丝素蛋白纤维提供了弹性^[11, 15]。

蜘蛛大壶状腺丝主要由两种大壶状腺蛛丝蛋白 MaSp1 和 MaSp2 构成, 其中 MaSp2 蛋白的脯氨酸质量分数明显高于 MaSp1 的脯氨酸质量分数^[16]。大壶状腺蛛丝蛋白的重均分子量为 $2 \times 10^8 \sim 3.5 \times 10^8$, 由 40~200 种氨基酸重复约 100 次构成主体部分, 由聚丙氨酸链段和富集甘氨酸/脯氨酸的模块 (GPGXX, X 主要是酪氨酸、亮氨酸和谷氨酰胺) 构成, 其中聚丙氨酸链段折叠成的 β -折叠可以形成 β 晶体, 为蜘蛛大壶状腺丝提供了强度, 而富集甘氨酸/脯氨酸的模块则提供弹性和柔性。

2 丝蛋白结构对力学性能的影响

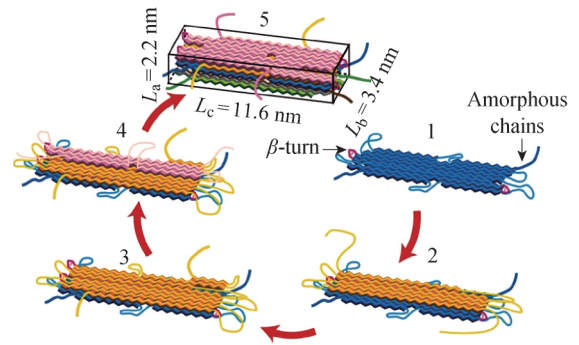
只有优异的力学性能才能保证材料在使用过程中正常发挥其功能性和持久性^[17-18]。本部分将从丝蛋白结构的角度总结其对力学性能的影响。

2.1 丝蛋白亲疏水域

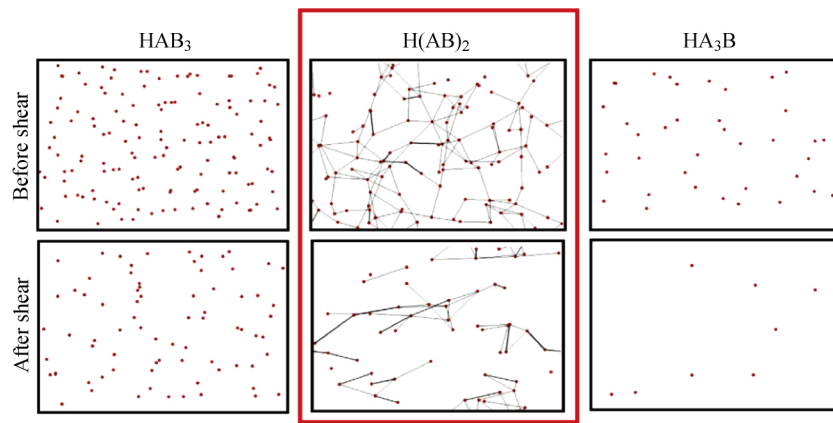
Lin 等^[19]利用耗散粒子动力学模拟的方法研究了分子内亲疏水域比例对丝素蛋白纤维形成的影响。用 3 种多肽序列 (HAB_3 , H(AB)_2 , HA_3B , 其中 A 为疏水域, B 为亲水域, H 为亲水的终端域) 的“节点-桥”模型表示蛋白分子形成纤维的过程中需要经历的剪切流变过程, 其变化如图 7 所示。由图 7 可知, 只有 H(AB)_2 中形成了脆弱的晶体网络, 并在剪切流变后受到很大程度的破坏, 而其他两种多肽序列剪切流变前后都没有形成晶体网络, 说明只有适中的亲疏水域比例才能形成连接的晶体网络从而进一步形成丝素蛋白纤维。

Lewis 等^[20]对蜘蛛腺体中 MaSp1 氨基酸序列的研究表明, MaSp1 中亲疏水域物质的量之比接近 1:1, 而蜘蛛大壶状腺丝的强度证明这一亲疏水域的比例确实最有利于动物蛋白纤维的力学性能。

即使同为蜘蛛大壶状腺丝, 品种不同的蜘蛛吐出的蜘蛛大壶状腺丝在氨基酸亲疏水域的比例却有着略微的不同, 而这种区别对于蜘蛛大壶状腺丝的综合力学性能却有着巨大的影响。Blackledge 等^[21]通过研究表明, 络新妇蛛大壶状腺丝中 Ala 的质量分数为 21.1%~27.5%, 而十字园蛛大壶状腺丝中 Ala 的质量分数则为 17.6%, 这意味着前者的蛛丝蛋白拥有更多的疏水域。最终导致的结果就是前者的杨氏模量为 8~14 GPa, 而后者的杨氏模量仅为 4 GPa, 由此也可以看出丝蛋白中亲疏水域比例对最终丝蛋白纤维的力学性

图 6 β -折叠晶体的生长过程^[7]Fig. 6 Crystal growth process of β -sheet^[7]

能有着巨大的影响。



“A” is a hydrophobic domain; “B” is a hydrophilic domain; “H” is a hydrophilic terminal domain; Red dots represent crystals; Black lines represent interaction between crystals

图 7 3 种多肽序列的“节点-桥”模型表示剪切流变前后晶体网络结构的变化^[19]

Fig. 7 “Node-bridge” model of the three polypeptide sequences represents the changes in the crystal network structure before and after shear rheology^[19]

2.2 丝蛋白分子的分子量

丝素蛋白重链重均分子量约 3.91×10^8 ^[12],大壶状腺蛛丝蛋白重均分子量约为 3.50×10^8 ^[16],都是典型的生物大分子,丝素蛋白重均分子量对最终形成的蛋白纤维的力学性质也有十分重要的影响。Lin 等^[19]研究了分子链长度对丝素蛋白纤维形成的影响。短链多肽序列 $H(AB)_4$ 和长链多肽序列 $H(AB)_{12}$ 单个蛋白的示意图与蛋白溶液剪切流变前后的“节点-桥”模型如图 8 所示。由图 8 可知, $H(AB)_4$ 和 $H(AB)_{12}$ 对应的重均分子量分别为 1.2×10^7 和 4.4×10^7 ,长链蛋白分子形成的晶体网络更加致密,内部有更稳定的结构,其受到剪切力作用后晶体间的相互作用力更强了,并且还保持着均匀连续的网络结构;而短链蛋白分子受到

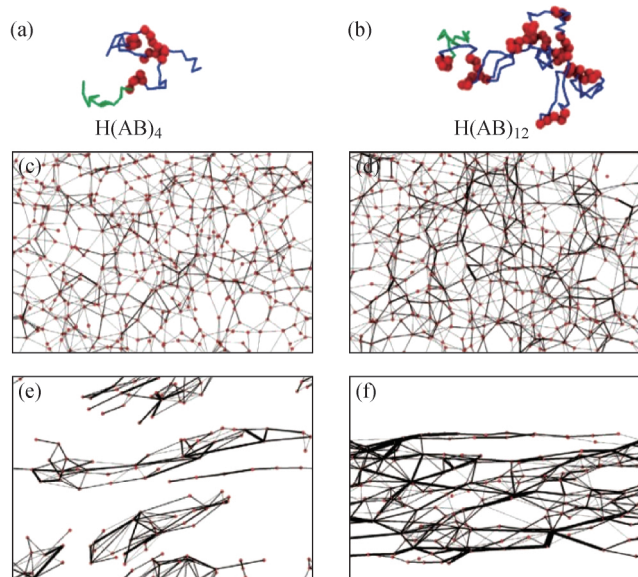


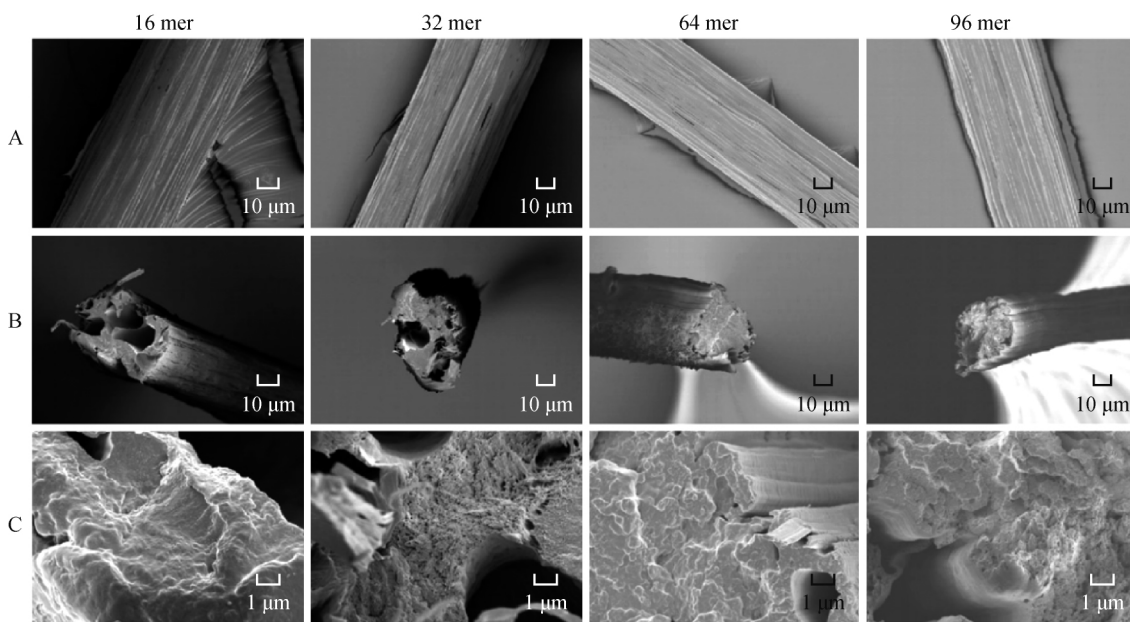
图 8 短链多肽序列 $H(AB)_4$ (左列)和长链多肽序列 $H(AB)_{12}$ (右列)单个蛋白的示意图(a,b);不同序列蛋白溶液剪切流变前(c,d)后(e,f)的“节点-桥”模型(黑色实线的粗细代表“桥”重叠的程度,即晶体之间相互作用力的大小)^[19]

Fig. 8 Schematic of individual proteins (a,b) and “node-bridge” models of protein solution before (c,d) and after (e,f) shear rheology of short-chain polypeptide $H(AB)_4$ (left column) and long-chain polypeptide $H(AB)_{12}$ (right column) (The degree of the black solid line thickness represents the degree of overlap of the “bridge”, that is, the magnitude of the interaction between the crystals)^[19]

剪切力后,虽然部分晶体间的相互作用力变强了,但剪切力破坏了部分相互作用力,使得晶体网络变得不连续。因此,长链丝蛋白更有利于形成力学性能优异的丝蛋白纤维。

Zhou 等^[22]研究表明对丝素蛋白分子施加剪切力可以提高丝素蛋白纤维内部分子的取向度,最终导致丝素蛋白纤维的力学性能提高。Du 等^[23]同样观察到使用拉伸和剪切应力提高蜘蛛吐丝的速率可以提高蜘蛛大壶状腺丝纤维内部晶体的取向,最终明显提高蜘蛛大壶状腺丝纤维的力学性能。无论是丝素蛋白纤维还是蜘蛛大壶状腺丝纤维在纤维轴向上都有着优异的拉伸断裂强度,而施加非拉伸应力时两者却是十分柔软的材料。因此,剪切力和拉伸力对丝蛋白的分子链和分子链聚集态结构均有使之取向排列的作用,对形成力学性能优异的丝蛋白纤维都有至关重要的贡献。

Xia 等^[24]利用基因工程合成了不同重均分子量的重组蜘蛛丝蛋白,通过实验证明了重均分子量对再生蜘蛛丝的结构和力学性能的影响。图 9 为由不同重均分子量的重组蛛丝蛋白制备得到的再生蛛丝场发射扫描电子显微镜形貌图。由图 9 可以看出,由重均分子量最小的重组蛛丝蛋白得到的再生蛛丝截面有许多不规则的孔洞,孔洞的大小随着重均分子量增加逐渐减小,当其重均分子量达到天然蛛丝蛋白的重均分子量($2.5 \times 10^5 \sim 3.2 \times 10^5$)时,孔洞几乎消失,这是由于重均分子量越大,裸露的分子链末端就越少,在纤维成形时造成的缺陷就越少。纤维截面孔洞的存在必然会降低纤维的力学性能,因此增加重组蛛丝蛋白重均分子量可以提高再生蛛丝的力学性能^[24]。



A—Topography; B,C—Morphology at break

图 9 不同重均分子量的重组蛛丝蛋白制备得到的再生蛛丝场发射扫描电子显微镜形貌图(16~96 mer 代表氨基酸序列重复 16~96 次,对应重均分子量为 $5.46 \times 10^4 \sim 2.85 \times 10^5$)^[24]

Fig. 9 Field emission scanning electron microscope images of the regenerated spider silk spun from recombinant spider silk solution with different molecular weights (The 16—96 mer represents 16—96 amino acid sequence repeats and corresponds to a molecular weight of $5.46 \times 10^4 \sim 2.85 \times 10^5$)^[24]

由于蚕丝中只有丝素蛋白纤维具有优异的力学性能和生物相容性,而包裹在丝素蛋白纤维外层的丝胶蛋白不提供任何力学性能,甚至会引起生物炎症,所以蚕丝纤维在使用之前需要进行脱胶除去丝胶蛋白^[25]。蚕丝的脱胶方式有许多,不同的脱胶方式会对丝素蛋白造成一定程度的降解。同时,脱胶后得到的丝素蛋白纤维溶解方法也有很多,不同的溶解方法也会对丝素蛋白的分子量造成一定程度的影响。由于重均分子量越低越不利于丝素蛋白纤维的成形,最终得到的丝素蛋白纤维力学性能就越差,所以找到对丝素蛋白纤维降解效果最弱的脱胶方式和溶解方法是制备力学性能优良的再生丝素蛋白纤维的必备条件。

Yamada 等^[26]利用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法,通过不同脱胶方式对丝素蛋白降解的效果进行了分析。结果表明使用煮沸的 Na_2CO_3 溶液会对丝素蛋白纤维造成强烈的降解,使用 Ajisawa 试剂

($n(\text{CaCl}_2) : n(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}) : n(\text{H}_2\text{O}) = 1 : 2 : 8$)溶解后的丝素蛋白分子也发生了明显的降解,但是使用 LiSCN 溶液溶解后的丝素蛋白分子降解程度很小。Wang 等^[27]证明和 LiSCN 溶液同为锂盐溶液的 LiBr 溶液也可以最大程度上保持丝素蛋白分子不降解,而且脱胶时采用 NaHCO_3 溶液可以尽量保持丝素蛋白分子不降解;Kaplan 领导的实验室^[25]采用 NaHCO_3 溶液脱胶和 LiBr 溶液溶解的方式,得到了数量众多的实验成果。

目前许多实验室也意识到了重均分子量对纤维宏观性能的影响,希望通过使用交联剂的方法对最终纤维的性能进行改性^[28-29]。

2.3 丝蛋白的晶体网络

丝素蛋白纤维和蜘蛛大壶状腺丝纤维拥有出色的力学性能与两种纤维的一级结构、二级结构、 β -折叠晶体网络(纳米纤维)以及纳米纤维之间的相互作用力等有关。丝素蛋白纤维内拥有显著的力学稳定性^[30-31],主要是由于其内部自身的 β -折叠具有优异的力学稳定性^[22],以及构成晶体网络的独特拓扑结构进一步提高了结构的稳定性。在丝素蛋白纤维中纳米结构单元彼此连接方式和各结构单元的含量均决定了丝素蛋白纤维最终独特的宏观性能,目前已经发展出许多对丝素蛋白材料晶体网络表征的方法,例如 X 射线衍射(XRD)^[32-33]、电子显微镜^[34-35]、核磁共振^[36-37]、傅里叶红外光谱^[13-14]、拉曼光谱^[22]、原子力显微镜(AFM)^[7]等,人们借助上述表征方法对丝蛋白纤维的内部结构进行了广泛的研究。

研究表明丝素蛋白纤维并不是由单独的一个晶体网络构成,而是由一系列独立的晶体网络(纳米纤维)扭结在一起形成的^[7],相邻纳米纤维之间主要是依靠物理接触或者弱的相互作用构成的整体^[3]。因此,丝素蛋白纤维的宏观性能既取决于低维度的晶体网络内部结构,也取决于高维度的晶体网络之间的相互作用。丝素蛋白纤维的多级结构示意图^[23,38-39]如图 10 所示。以 β -折叠晶体为节点、以无定形二级结构为纽带而形成的纳米晶体网络为纳米纤维的主体,由于丝素蛋白纤维的形成过程中受到剪切力取向的作用,所以纳米晶体网络(纳米纤维)就会沿着纤维方向择优取向^[23,39];各个独立的晶体网络(纳米纤维)受到取向力以后就会如麻绳一般扭结在一起形成纳米纤维束,从而赋予了纳米纤维之间很强的相互作用力,这种结构也给丝素蛋白纤维带来了优异的强度与韧性。在凝胶、支架和薄膜等无取向或者弱取向的再生丝素蛋白材料中,由于纳米纤维生长的过程中没有受外部作用力诱导取向生长,所以各个独立的晶体网络(纳米纤维)朝着各个方向自由生长形成多个各向异性的纳米纤维,纳米纤维之间由于空间上分布不致密且中间充斥着水分子而无法形成致密的结构,即纳米纤维组成的域网络,该域网络相对于丝素蛋白纤维中纳米纤维之间的相互

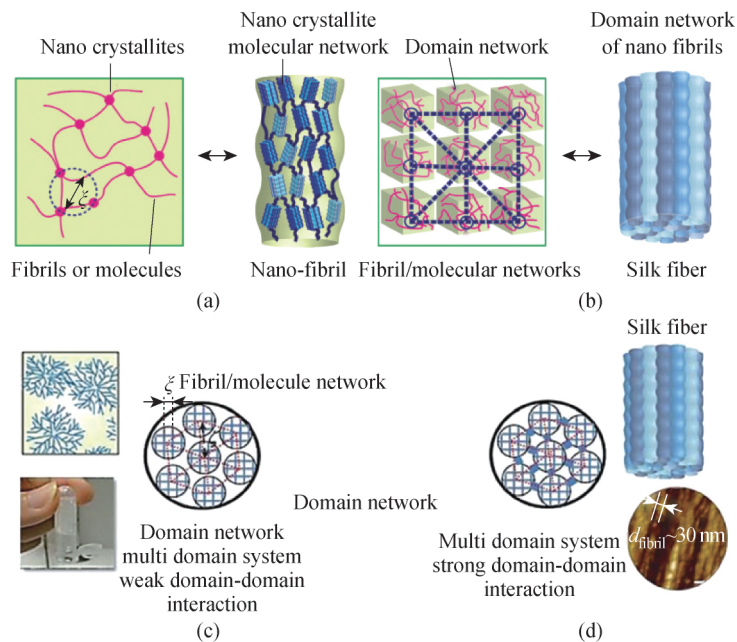


图 10 丝素蛋白纤维的多级结构示意图^[3]

Fig. 10 Schematic of the multi-level structure of the silk fibroin fibers^[3]

作用力很弱,导致再生丝素蛋白材料的宏观力学性能不尽如人意,AFM 图则展示了丝素蛋白纤维中纳米纤维沿着纤维轴向有序排列形成致密的网络结构,这种网络结构内部则有着很强的相互作用力^[3,23,38-39]。因此,对纳米纤维进行取向致密排列是得到力学性能优异的再生丝素蛋白纤维的又一关键。

晶体网络结构是与材料宏观性能最密不可分的控制因素之一,晶体结构中拓扑结构、相关长度、取向度和连接(或者相互作用的强度)这 4 个因素决定了晶体结构的强度。研究表明 β -折叠晶体是丝素蛋白纤维的纳米结构单元,通过无定形的丝素蛋白分子相互连接而成,最终形成了一种“渔网状”的结构(如图 11 所示)^[7],断裂晶体附近的晶体可以有效地分担应力不至于使纤维整体断裂,正是这种独特的结构赋予了丝素蛋白纤维优异的力学性能。图 11(b)表明,相比于扭转的淀粉原纤和串状原纤,渔网状结构赋予材料的宏观力学强度最优异。因此,如何控制再生丝素蛋白纤维的结晶度和网络密度是提高再生丝素蛋白纤维力学性能的关键因素。

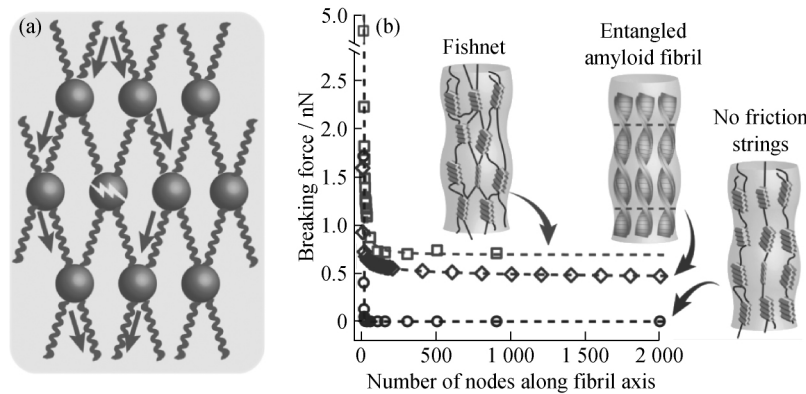


图 11 渔网状结构的模型(a)和力学性能(b)^[7]

Fig. 11 Fishnet-like structures model (a) and mechanical properties (b)^[7]

Ha 等^[40]以甲醇和水的混合液作为凝固浴制备再生丝素蛋白纤维,Marsano 等^[41]使用乙醇作为凝固浴制备再生丝素蛋白纤维,但其断裂伸长率只有不到 2%,远低于天然丝素蛋白纤维的 15%。目前已有许多文献证明,使用醇类作为凝固浴制备再生丝素蛋白纤维得到的纤维断裂伸长率都十分低,主要是因为醇类会诱导丝素蛋白迅速结晶,使得内部丝素蛋白分子结构以杂乱无序的状态稳定下来,毫无取向可言,不利于再生丝素蛋白纤维的力学性能,因此以醇类作为凝固浴并不是一种很好的选择。

再生丝素蛋白材料如果结晶度不够高很容易溶于水。Hu 等^[42]通过对再生丝素蛋白材料施加水蒸气退火的方式提高材料的结晶度,该方法促使丝素蛋白结晶过程缓慢连续,有利于再生丝素蛋白纤维内部晶体的取向,提高纤维的力学性能。通过抽真空的方式可以控制水蒸气温度,再生丝素蛋白材料受到不同温度的水蒸气处理后其结晶度随时间的变化如图 12 所示。从图 12 可以看出,再生丝素蛋白材料受到处理的水蒸气温度越高,结晶度上升的速率越快,最终得到的结晶度也越高。也有实验证明了通过水蒸气提高结晶度可以明显提高再生丝素蛋白纤维的断裂强度^[22]。

Tsukada 等^[43]使用甲醇对再生柞蚕丝素蛋白薄膜进行处理,结果表明丝素蛋白的二级构象发生了由 α -螺旋到 β -折叠的转变,薄膜的结晶度也得到了提高。Kweon 等^[44]对再生柞蚕丝素蛋白薄膜进行热处理,同样观察到了丝素蛋白的二级构象从 α -螺旋转变为 β -折叠,薄膜的结晶度得到了提高。Beek 等^[45]对蓖麻蚕的

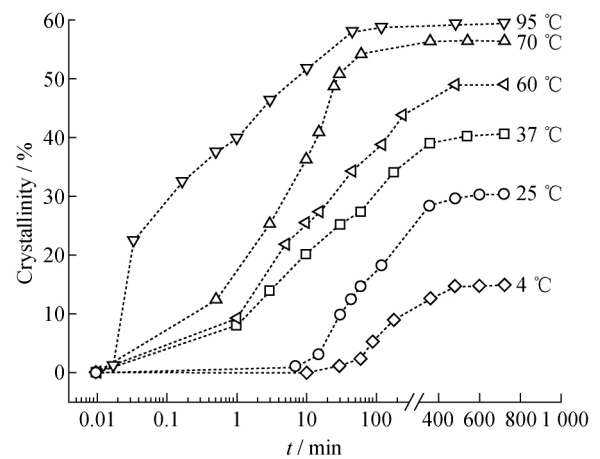


图 12 再生丝素蛋白材料受到不同温度的水蒸气处理后结晶度随时间的变化^[42]

Fig. 12 Change of regenerated silk fibroin materials crystallinity over time treated with steam annealing at different temperatures^[42]

研究表明,蓖麻蚕丝纤维中丝素蛋白分子主要是反平行的 β -折叠构象,力学性能和家蚕丝纤维相近,而直接从丝腺中得到的溶液其成膜后则主要是 α -螺旋构象。由此可以看出,虽然丝蛋白的一级结构因蚕的种类不同而有所不同,但是其二级结构乃至晶体结构的变化对材料宏观性质的影响却有着诸多相似之处。

3 超强丝纤维

再生丝素蛋白纤维是再生丝素蛋白材料的一种重要研究对象,各国科学家都希望通过将天然丝素蛋白纤维溶解后重新固化成型,得到力学性能比天然丝素蛋白纤维更加优异的再生丝素蛋白纤维。部分再生丝素蛋白纤维的力学性能详见表1。

表1 再生丝素蛋白纤维的力学性能
Table 1 Mechanical properties of regenerated silk fibroin fibers

No.	Fracture stress/MPa	Elongation at break/%	Reference
1	360±10	7±1	[46]
2	450±20	27.7±4.2	[22]
3	280±16	12.7±1	[47]
4	410±20	56±3	[48]
5	450±30	27.3±4.6	[49]
6	435±75	21±9	[50]
7	470±54	38.6±6.3	[51]
8	120	35	[41]
9	127±8	12±2	[52]
10	390±50	32.1±5.8	[53]
11	314±19	37±4	[54]

有关再生丝素蛋白纤维的研究主要集中在断裂强度和断裂伸长率方面,采用的方法多为提高再生丝素蛋白的结晶度和内部分子的取向度。

由于蜘蛛丝原料的匮乏,目前还无法开展大规模的再生蜘蛛丝材料生产。研究材料主要来自基因工程和蜘蛛丝腺。Heidebrecht等^[16]利用基因工程合成了重组蛛丝蛋白并将其用于溶液纺丝,研究表明重组蛛丝蛋白的链末端连接着氨基或者羧基的氨基酸结构,虽然链长很短但对最终得到的再生蛛丝纤维的力学性能却有着巨大的影响。除此之外,重组蛛丝蛋白的重均分子量也对力学性能影响很大,虽然力学性能最好的再生蛛丝纤维的断裂强度只能达到370~380 MPa,远低于天然蛛丝的1.2 GPa,但由于其断裂伸长率超过100%,远大于天然蛛丝不足30%的断裂伸长率,使得再生蛛丝的断裂能可以到达170~190 MJ/m³,甚至高于天然蛛丝的160 MJ/m³,这主要是由富含脯氨酸的MaSp2蛋白类似物导致的。相比于天然蛛丝,再生蛛丝力学性能差异如此巨大的主要原因是天然蛛丝纺丝过程至少有2种大壶状腺丝蛋白参与,而该实验是单一的蛋白纺丝体系,且天然纺丝过程比人工纺丝过程复杂得多,如果能够引入更多的纺丝蛋白并优化纺丝过程,有望获得力学强度超过天然蛛丝的再生蛛丝。Xia等^[24]利用基因工程合成了不同重均分子量的重组蛛丝蛋白,然后将各重均分子量的蛛丝蛋白进行溶液纺丝,研究表明蛛丝蛋白重均分子量越大得到的重组蜘蛛丝力学性能越优异。

4 结论与展望

丝素蛋白纤维和蜘蛛大壶状腺丝拥有出色的力学性能与其一级结构、二级结构、 β -折叠晶体网络(纳米纤维)以及纳米纤维之间的相互作用力等有关。晶体网络结构是与材料宏观性能最密不可分的控制因素之

一,晶体网络结构中拓扑结构、相关长度、取向度和连接(或者相互作用的强度)这4个因素决定了晶体结构的强度,这为再生丝素蛋白纤维和再生蜘蛛丝的力学性能的控制及提高提供了指导。

参考文献:

- [1] PORTER D, GUAN J, VOLLRATH F. Spider silk; Super material or thin fibre? [J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(9): 1275-1279.
- [2] ANH TUAN N, HUANG Q L, YANG Z, *et al.* Crystal networks in silk fibrous materials: From hierarchical structure to ultra performance [J]. *Small*, 2015, 11(9-10): 1039-1054.
- [3] LIN N B, LIU X Y. Correlation between hierarchical structure of crystal networks and macroscopic performance of mesoscopic soft materials and engineering principles [J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(21): 7881-7915.
- [4] XU G, GONG L, YANG Z, *et al.* What makes spider silk fibers so strong? From molecular-crystallite network to hierarchical network structures [J]. *Soft Matter*, 2014, 10(13): 2116-2123.
- [5] DU N, YANG Z, LIU X Y, *et al.* Structural origin of the strain-hardening of spider silk [J]. *Advanced Functional Materials*, 2011, 21(4): 772-778.
- [6] ASAKURA T, SUZUKI Y, NAKAZAWA Y, *et al.* Elucidating silk structure using solid-state NMR [J]. *Soft Matter*, 2013, 9(48): 11440-11450.
- [7] LIU R, DENG Q, YANG Z, *et al.* "Nano-fishnet" structure making silk fibers tougher [J]. *Advanced Functional Materials*, 2016, 26(30): 5534-5541.
- [8] OCHI A, HOSSAIN K S, MAGOSHI J, *et al.* Rheology and dynamic light scattering of silk fibroin solution extracted from the middle division of *Bombyx mori* silkworm [J]. *Biomacromolecules*, 2002, 3(6): 1187-1196.
- [9] ASAKURA T, UMEMURA K, NAKAZAWA Y, *et al.* Some observations on the structure and function of the spinning apparatus in the silkworm *Bombyx mori* [J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8(1): 175-181.
- [10] VOLLRATH F, KNIGHT D P. Liquid crystalline spinning of spider silk [J]. *Nature*, 2001, 410(6828): 541-548.
- [11] KOH L D, CHENG Y, TENG C P, *et al.* Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials [J]. *Progress in Polymer Science*, 2015, 46: 86-110.
- [12] ZHOU C Z, CONFALONIERI F, JACQUET M, *et al.* Silk fibroin; Structural implications of a remarkable amino acid sequence [J]. *Proteins: Structure Function and Genetics*, 2001, 44(2): 119-122.
- [13] TU H, YU R, LIN Z F, *et al.* Programming performance of wool keratin and silk fibroin composite materials by mesoscopic molecular network reconstruction [J]. *Advanced Functional Materials*, 2016, 26(48): 9032-9043.
- [14] SONG Y, LIN Z F, KONG L Q, *et al.* Meso-functionalization of silk fibroin by upconversion fluorescence and near infrared *in vivo* biosensing [J]. *Advanced Functional Materials*, 2017, 27(26): 1700628.
- [15] HAYASHI C Y, SHIPLEY N H, LEWIS R V. Hypotheses that correlate the sequence, structure, and mechanical properties of spider silk proteins [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1999, 24(2-3): 271-275.
- [16] HEIDEBRECHT A, EISOLDT L, DIEHL J, *et al.* Biomimetic fibers made of recombinant spidroins with the same toughness as natural spider silk [J]. *Advanced Materials*, 2015, 27(13): 2189-2194.
- [17] VOLLRATH F, PORTER D. Silks as ancient models for modern polymers [J]. *Polymer*, 2009, 50(24): 5623-5632.
- [18] FOO C W P, BINI E, HENSMAN J, *et al.* Role of pH and charge on silk protein assembly in insects and spiders [J]. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 2006, 82(2): 223-233.
- [19] LIN S, RYU S, TOKAREVA O, *et al.* Predictive modelling-based design and experiments for synthesis and spinning of bioinspired silk fibres [J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6892.
- [20] LEWIS R V. Spider silk; Ancient ideas for new biomaterials [J]. *Chemical Reviews*, 2006, 106(9): 3762-3774.
- [21] BLACKLEDGE T A, KUNTNER M, MARHABAIE M, *et al.* Biomaterial evolution parallels behavioral innovation in the origin of orb-like spider webs [J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 833.
- [22] ZHOU G, SHAO Z, KNIGHT D P, *et al.* Silk fibers extruded artificially from aqueous solutions of regenerated bombyx morisilk fibroin are tougher than their natural counterparts [J]. *Advanced Materials*, 2009, 21(3): 366-370.
- [23] DU N, LIU X Y, NARAYANAN J, *et al.* Design of superior spider silk; From nanostructure to mechanical properties [J]. *Biophysical Journal*, 2006, 91(12): 4528-4535.
- [24] XIA X X, QIAN Z G, KI C S, *et al.* Native-sized recombinant spider silk protein produced in metabolically engineered

- escherichia coli results in a strong fiber [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(32): 14059-14063.
- [25] ROCKWOOD D N, PREDAR C, YUCEL T, *et al.* Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin [J]. Nature Protocols, 2011, 6(10): 1612-1631.
- [26] YAMADA H, NAKAO H, TAKASU Y, *et al.* Preparation of undegraded native molecular fibroin solution from silkworm cocoons [J]. Materials Science & Engineering C: Biomimetic and Supramolecular Systems, 2001, 14(1-2): 41-46.
- [27] WANG Q, CHEN Q, YANG Y H, *et al.* Effect of various dissolution systems on the molecular weight of regenerated silk fibroin [J]. Biomacromolecules, 2013, 14(1): 285-289.
- [28] 张芳芳, 扈艳红, 杜磊, 等. 含噁嗪环硅烷偶联剂对石英纤维/含硅芳炔复合材料性能的影响 [J]. 功能高分子学报, 2017, 30(3): 347-353.
- [29] 张雪, 刘媛, 杨斌, 等. 碳纤维表面改性对复合材料性能的影响 [J]. 功能高分子学报, 2017, 30(4): 444-449.
- [30] VOLPATTI L R, KNOWLES T P J. Polymer physics inspired approaches for the study of the mechanical properties of amyloid fibrils [J]. Journal of Polymer Science: Part B. Polymer Physics, 2014, 52(4): 281-292.
- [31] XIAO S, XIAO S, GRAETER F. Dissecting the structural determinants for the difference in mechanical stability of silk and amyloid beta-sheet stacks [J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2013, 15(22): 8765-8771.
- [32] ZHAO L N, LU L, CHEW L Y, *et al.* Alzheimer's disease: A panorama glimpse [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(7): 12631-12650.
- [33] MEERSMAN F, CABRERA R Q, MCMILLAN P F, *et al.* Compressibility of insulin amyloid fibrils determined by X-ray diffraction in a diamond anvil cell [J]. High Pressure Research, 2009, 29(4): 665-670.
- [34] ABELEIN A, ABRAHAMS J P, DANIELSSON J, *et al.* The hairpin conformation of the amyloid beta peptide is an important structural motif along the aggregation pathway [J]. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2014, 19(4/5): 623-634.
- [35] TYCKO R, WICKNER R B. Molecular structures of amyloid and prion fibrils: Consensus versus controversy [J]. Accounts of Chemical Research, 2013, 46(7): 1487-1496.
- [36] BUCHETE N V. Unlocking the atomic-level details of amyloid fibril growth through advanced biomolecular simulations [J]. Biophysical Journal, 2012, 103(7): 1411-1413.
- [37] WEINGARTH M, BALDUS M. Solid-state NMR-based approaches for supramolecular structure elucidation [J]. Accounts of Chemical Research, 2013, 46(9): 2037-2046.
- [38] CHEN Z, ZHANG H, LIN Z, *et al.* Programming performance of silk fibroin materials by controlled nucleation [J]. Advanced Functional Materials, 2016, 26(48): 8978-8990.
- [39] TSIORIS K, RAJA W K, PRITCHARD E M, *et al.* Fabrication of silk microneedles for controlled-release drug delivery [J]. Advanced Functional Materials, 2012, 22(2): 330-335.
- [40] HA S W, TONELLI A E, HUDSON S M. Structural studies of Bombyx mori silk fibroin during regeneration from solutions and wet fiber spinning [J]. Biomacromolecules, 2005, 6(3): 1722-1731.
- [41] MARSANO E, CORSINI P, AROSIO C, *et al.* Wet spinning of Bombyx mori silk fibroin dissolved in N-methyl morpholine N-oxide and properties of regenerated fibres [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2005, 37(4): 179-188.
- [42] HU X, SHMELEV K, SUN L, *et al.* Regulation of silk material structure by temperature-controlled water vapor annealing [J]. Biomacromolecules, 2011, 12(5): 1686-1696.
- [43] TSUKADA M, FREDDI G, MONTI P, *et al.* Structure and molecular conformation of tussah silk fibroin films; Effect of methanol [J]. Journal of Polymer Science: Part B. Polymer Physics, 1995, 33(14): 1995-2001.
- [44] KWEON H, WOO S O, PARK Y H. Effect of heat treatment on the structural and conformational changes of regenerated Antheraea pernyi silk fibroin films [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2001, 81(9): 2271-2276.
- [45] van BEEK J D, BEAULIEU L, SCHAFFER H, *et al.* Solid-state NMR determination of the secondary structure of Samia cynthia ricini silk [J]. Nature, 2000, 405(6790): 1077-1079.
- [46] PLAZA G R, CORSINI P, MARSANO E, *et al.* Correlation between processing conditions, microstructure and mechanical behavior in regenerated silkworm silk fibers [J]. Journal of Polymer Science: Part B. Polymer Physics, 2012, 50(7): 455-465.
- [47] CHO H J, YOO Y J, KIM J W, *et al.* Effect of molecular weight and storage time on the wet- and electro-spinning of

- regenerated silk fibroin [J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2012, 97(6): 1060-1066.
- [48] FANG G Q, ZHENG Z K, YAO J R, *et al.* Tough protein-carbon nanotube hybrid fibers comparable to natural spider silks [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, 3(19): 3940-3947.
- [49] FANG G, HUANG Y, TANG Y, *et al.* Insights into silk formation process: Correlation of mechanical properties and structural evolution during artificial spinning of silk fibers [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2016, 2(11): 1992-2000.
- [50] ZHANG C, ZHANG Y P, SHAO H L, *et al.* Hybrid silk fibers' dry-spun from regenerated silk fibroin/graphene oxide aqueous solutions [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(5): 3349-3358.
- [51] ZHANG F, LU Q, YUE X X, *et al.* Regeneration of high-quality silk fibroin fiber by wet spinning from CaCl₂-formic acid solvent [J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 12: 139-145.
- [52] PLAZA G R, CORSINI P, PEREZ-RIGUEIRO J, *et al.* Effect of water on Bombyx mori regenerated silk fibers and its application in modifying their mechanical properties [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2008, 109(3): 1793-1801.
- [53] YAN J P, ZHOU G Q, KNIGHT D P, *et al.* Wet-spinning of regenerated silk fiber from aqueous silk fibroin solution: Discussion of spinning parameters [J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(1): 1-5.
- [54] ZHOU H, SHAO Z Z, CHEN X. Wet-spinning of regenerated silk fiber from aqueous silk fibroin solutions: Influence of calcium ion addition in spinning dope on the performance of regenerated silk fiber [J]. *Chinese Journal of Polymer Science*, 2014, 32(1): 29-34.



林乃波, 厦门大学材料学院副教授。基于对蚕丝多级结构与性能之间关系的理解, 将具有光学性能的材料复合到蚕丝蛋白材料中, 通过调节添加物与蚕丝蛋白材料之间的相互作用, 赋予了蚕丝材料特殊的光学性能, 并将其应用在生物医学领域。以第一作者或通信联系人在 *Chem Soc Rev*, *Adv Funct Mater*, *Small*, *Polym Chem* 和 *J Mater Chem B* 等国际知名期刊上发表多篇论文。已撰写 2 本专著的部分章节, 分别由知名出版公司 Wiley-VCH 和 Woodhead Publishing 出版。主持承担了福建省自然科学基金杰出青年项目、国家自然科学基金面上项目和青年基金项目等。



刘向阳, 教育部长江学者讲座教授, 厦门大学物理与科学技术学院副院长、厦大学生物仿生及软物质研究院院长。在生物物理、仿生材料、纳米科技、晶体生长、表面以及胶体科学等领域有超过 25 年工作经验。由于在晶体生长、生物物理及软功能材料方面成就杰出, 多次应邀去世界各地做学术报告, 并在不同国际性学会任职。以第一作者及通信作者在 *Nature*, *J Am Chem Soc*, *Phys Rev Lett*, *Angew Chem Int Ed*, *Adv Mat*, *J Biological Chem* 等国际知名期刊上发表论文近 200 篇。由知名出版公司 Springer, Wiley-VCH 特邀编撰了 4 部专著。