

文章编号: 1671-0444 (2019)04-0545-10

纳米金簇复合丝素薄膜的性能及其在生物成像中的应用

张鸿昊^{a, b, c}, 曹丽薇^{a, b, c}, 黄巧玲^{b, c}, 林乃波^{a, b, c}, 刘向阳^{a, b, c}

(厦门大学 a. 材料学院; b. 生物仿生及软物质研究院;
c. 福建省柔性功能材料重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 具有荧光性能的丝素薄膜可用于生物体内外实时的、无损伤的生物成像, 为直观监测体内生物材料及其化学环境的变化提供了新思路。采用浇铸法制备纳米金簇复合丝素薄膜, 研究了纳米金簇、甘油和制备过程中 pH 值对纳米金簇复合丝素薄膜结构和性能的影响。结果表明: 纳米金簇和甘油的加入都会提高纳米金簇复合丝素薄膜 β -折叠和结晶度, 从而提高其断裂强度; 在碱性条件下制备的纳米金簇复合丝素薄膜在 680 nm 处可发射较强荧光; 细胞能在制备的薄膜上正常黏附和生长, 实现薄膜和细胞同时荧光成像。

关键词: 丝素薄膜; 荧光; 纳米金簇; 甘油; 生物相容性

中图分类号: TS 149

文献标志码: A

Properties of Gold Nanoclusters Silk Fibroin Composite Film and Its Application in Biological Imaging

ZHANG Honghao^{a, b, c}, CAO Liwei^{a, b, c}, HUANG Qiaoling^{b, c}, LIN Naibo^{a, b, c}, LIU Xiangyang^{a, b, c}

(a. College of Materials; b. Research Institution for Biomimetics and Soft Matter; c. Fujian

Key Provincial Laboratory for Soft Functional Materials Research, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Fluorescent silk fibroin biomaterials can realize real-time and non-invasive biological imaging in vitro and in vivo, a new idea for direct monitoring of the evolution of biomaterials and their chemical environment was proposed. The gold nanoclusters silk fibroin composite films were prepared by casting method and the effects of gold nanoclusters, glycerol and pH on the structures and properties of the films were investigated. With the introduction of gold nanoclusters and glycerol, the β -sheet content and crystallinity of silk fibroin films increase, and so does the breaking stress. The gold nanoclusters silk fibroin composite films which are prepared under alkaline conditions could emit strong fluorescence at 680 nm. Cells can adhere and grow on the composite films, and the fluorescence imaging of the composite films and cells is realized simultaneously.

Key words: silk fibroin film; fluorescence; gold nanoclusters; glycerol; biocompatibility

蚕丝作为一种纺织纤维, 因具有独特的光泽和力学强度, 在中国已经有了近 5 000 年的使用历史。

收稿日期: 2018-01-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51773171, U1405226); 福建省科技厅自然科学基金资助项目(2017J06019); 高等学校学科创新引智计划资助项目(B16029); 厦门大学校长基金资助项目(20720160088, 20720150218)

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

林乃波(联系人), 男, 助理教授, E-mail: linnaibo@xmu.edu.cn

蚕丝材料由于还具有优异的生物相容性^[1]和可降解性^[2],因此在组织工程、伤口包扎、植入器件和药物运载等诸多方面大放异彩^[3-4]。再生蚕丝丝素薄膜的原材料即为蚕丝,其是诸多蚕丝再生材料中一种常见的形态,制备方法一般为蚕丝纤维经脱胶后得到丝素纤维,通过溶解、透析得到纯净的再生丝素溶液,再通过旋涂法^[5]、浇铸法^[6-7]或浸渍提拉法^[8]等得到再生蚕丝丝素薄膜。

近年来,人们对再生蚕丝丝素薄膜的研究兴趣越来越浓。例如:将血红蛋白包裹在丝素薄膜内可以制备一种对氧气响应的衍射光栅^[9-10];将生物酶(葡萄糖氧化酶、脂肪酶、过氧化物酶等)包裹在丝素薄膜内,其可以在 37 °C 下维持活性长达一年^[11-12];掺杂金纳米颗粒的丝素薄膜可以作为光激活的微型加热器件^[13];经过偶氮苯修饰的丝素薄膜可以作为一种 pH 响应器件^[14];通过在丝素薄膜打上不同周期性的纳米微孔可以使其呈现不同的结构色^[9, 15];当丝素薄膜中含有成骨细胞时可以很好地诱导骨组织再生^[16]。

再生蚕丝丝素薄膜具有修复体内组织的功能^[11-12],将具有红色荧光性能的纳米金簇复合到再生蚕丝丝素薄膜中,再植入体内,其能够在体内发出生物组织透过率较高的红色荧光,实现实时、无损伤的生物成像,为直观监测体内生物材料及化学环境的变化提供了新思路。本文将从复合丝素薄膜的形貌、结构与力学性能、水溶性、荧光性能和生物相容性的关系出发,探索纳米金簇复合丝素薄膜在生物成像中的应用。

1 试验部分

1.1 试剂与原料

家蚕蚕茧由广西蚕业研究所提供;碳酸氢钠、溴化锂、氯金酸、牛血清蛋白、氢氧化钠和甘油购买于国药集团化学试剂有限公司;Calcein-AM(钙黄绿素)购买于美国 Sigma 公司;去离子水由实验室提供。

1.2 仪器

85-2 型磁力恒温搅拌器(上海司乐仪器有限公司);DHG-9030A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);AXS advance 型 X 射线衍射仪(美国布鲁克科技有限公司);Fluoromax-4 型荧光分光光度计(日本株式会社堀场制作所);Lambda 750 型紫外可见近红外光谱仪(美国珀金埃尔默股份有限公司);Nicolet 型傅里叶变换显微红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司);SU-70 型场发

射扫描电子显微镜(日本日立集团);Microtester 5948 型微小拉力仪(英国英斯特朗公司);RXZ-128A 型恒温培养箱(宁波江南仪器厂);TCS SP5 型激光共聚焦荧光显微镜(德国徕卡显微系统有限公司)。

1.3 样品制备

1.3.1 丝素溶液的制备^[1]

将家蚕蚕茧剪成小片,取 10 g 蚕茧放入 2 L 质量分数为 0.5% 的碳酸氢钠溶液中,约 100 °C 下处理 30 min,重复操作 3 次,除去蚕丝外层丝胶。脱胶后的丝用去离子水清洗 5 次除去残留的碳酸氢钠,拧干、拉松后放于 60 °C 烘箱中烘干。称取 2 g 干燥的丝素纤维,加入 20 mL 浓度为 9.3 mol/L 的溴化锂溶液中,于 60 °C 中溶解 4 h。将溶解的丝素溶液装入透析袋(截留相对分子质量为 3 500),去离子水透析 48 h(第一天每隔 2 h 换一次水,第二天每隔 4 h 换一次水),即可得到质量分数为 5%~6% 的丝素溶液。

1.3.2 金纳米簇的合成^[17]

将 5 mL 浓度为 10 mmol/L 的氯金酸溶液加到 10 mL 质量浓度为 50 mg/mL 的牛血清蛋白溶液中,持续搅拌 2 min 后,加入 1 mL 浓度为 1 mol/L 氢氧化钠溶液,再持续搅拌 5 min,最后置于 37 °C 的烘箱中闭光反应 6 h,即可得到黄棕色的金纳米簇溶液。

1.3.3 纳米金簇复合丝素薄膜的制备

(1)含不同质量分数纳米金簇的复合丝素薄膜制备。调节丝素中纳米金簇的质量分数分别为 0、0.1%、0.3%、0.5% 和 0.7%,样品分别标记为 AuNCs-0、AuNCs-0.1%、AuNCs-0.3%、AuNCs-0.5% 和 AuNCs-0.7%,将丝素溶液和金纳米簇溶液的混合溶液放于模具中,置于温度为 25 °C、相对湿度为 50% 的恒温培养箱中 2 d。

(2)含不同质量分数甘油的纳米金簇复合丝素薄膜制备。在 AuNCs-0.5% 薄膜制备过程中添加一定质量的甘油,控制甘油在丝素中的质量分数分别为 0.1%、0.5%、1.0%、1.5% 和 2.0%,样品分别被命名为 0.1% gly、0.5% gly、1.0% gly、1.5% gly 和 2.0% gly,溶液混合均匀后放于模具中,置于温度为 25 °C、相对湿度为 50% 的恒温培养箱中 2 d。

(3)不同 pH 值条件下的纳米金簇复合丝素薄膜制备。在 AuNCs-0.5% 薄膜制备过程中用 NaOH 和 HCl 溶液分别调节混合溶液 pH 值至 2、6、8、10 和 12,样品分别标记为 pH-2、pH-6、pH-8、pH-10、pH-12,将各组溶液放于模具中,置

于温度为25℃、相对湿度为50%的恒温培养箱中2 d。

1.3.4 MC3T3-E1 细胞培养

将规格为1 cm×1 cm的纳米金簇复合丝素薄膜置于24孔板,于体积分数为75%的酒精中浸泡灭菌1 h,再用PBS(磷酸缓冲盐)溶液泡洗3次置换出酒精,转移至新的24孔板中,避光保存备用。用胰酶消化处于对数生长期的MC3T3-E1,使其诱导成骨细胞,获得细胞悬液,根据细胞计数结果调整细胞浓度至 $5.7 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$,按 $3 \times 10^4 \text{ cm}^{-2}$ 密度接种1 mL细胞悬液于细胞培养板中(每个孔板面积为 1.9 cm^2),培养4 d后,用钙黄绿素对细胞进行染色。

1.4 仪器表征

1.4.1 扫描电子显微镜(SEM)

取纳米金簇复合丝素薄膜的表面和横截面,对待测观察部位喷金,用SU-70型扫描电子显微镜观测纳米金簇复合丝素薄膜的表面、横截面的形貌和薄膜的厚度。加速电压为5 kV,电流强度为10 mA,样品到探针的工作距离(W_D)为8 mm。

1.4.2 红外吸收光谱(FTIR)

用Nicolet型傅里叶变换红外光谱仪在ATR衰减全反射模式下得到纳米金簇复合丝素薄膜的红外图谱,扫描范围为 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$,扫描次数为32,扫描速度为 $4 \text{ cm}^{-1}/\text{s}$ 。丝素红外吸收光谱中,酰胺I带(C=O的伸缩振动)特征峰位于 $1700 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 处(此峰经基线校准),将曲线作傅里叶去卷积,采用Gauss函数进行非线性拟合,尝试多次后,确定11个子峰,最后根据各子峰的面积比例计算 α 螺旋、 β 折叠、无规卷曲和 β 转角的含量^[18]。

1.4.3 X射线衍射(XRD)

用AXS advance型X射线衍射仪得到纳米金簇复合丝素薄膜的XRD图谱。使用Cu靶 K_{α} -X射线,在管电压为40 kV,管电流为20 mA,扫描速度为 $3(^{\circ})/\text{min}$ 的条件下,探测器记录衍射角 $2\theta = 5^{\circ} \sim 50^{\circ}$ 的晶体衍射强度。XRD谱图采用Pearson VII Area函数进行非线性拟合分峰,确定6个包括丝素薄膜的结晶峰和不定形态。其中,衍射角在 9.3° 、 $18.8^{\circ} \sim 19.0^{\circ}$ 、 20.8° 、 24.9° 和 32.3° 处为丝素的反平行 β 折叠结构的结晶峰, $22.5^{\circ} \sim 23.0^{\circ}$ 为无定形衍射峰^[19],最后根据各子峰的面积比例计算结晶度和非结晶含量^[20]。

1.4.4 力学性能测试

力学性能是生物材料的重要指标。生物材料具备一定力学性能有利于维持其形貌,从而促进细胞的黏附和在一定空间上的生长^[21]。用Microtester 5948型微小拉力仪测试纳米金簇复合丝素薄膜的拉伸应力和应变。试验在室温条件下进行,相对湿度为65%。选用量程为100 N的传感器,拉伸速度为15 mm/min,每组5个样品各平行测试4次。

1.4.5 水溶性测试

生物医用材料长期处于生物体水环境中,溶解率是稳定性的一个重要评价指标即材料在水环境中质量随着时间变化的情况^[22]。取各组纳米金簇复合丝素薄膜各5块,称取每个样的质量 m_0 ,放于50 mL去离子水中,分别于25℃恒温放置0、1、8、17和32 h。在DHG-9030A型烘箱中于60℃下烘干,称重,质量分别记为 $m_i (i=1,2,3,4)$,计算溶解相应天数薄膜的溶解率 r ,如式(1)所示。

$$r = (m_0 - m_i) / m_0 \times 100\% \quad (1)$$

1.4.6 荧光光谱测试

用Fluoromax-4型荧光分光光度计测得纳米金簇复合丝素薄膜的荧光图谱,激发波长为395 nm,扫描速度为10 nm/s,狭缝为2 nm。

1.4.7 细胞生长情况

在TCS SP5型激光共聚焦荧光显微镜下观察钙黄绿素染色1 h后的细胞在纯丝素薄膜和纳米金簇复合丝素薄膜上的生长以及与两种丝素薄膜的结合情况。

2 结果与讨论

2.1 表观形貌

不含甘油的AuNCs-0.5%和含甘油质量分数为1.0%的1.0% gly纳米金簇复合丝素薄膜的SEM图如图1所示。由图1可知,无论是否添加甘油,纳米金簇复合丝素薄膜表面都呈现出平整、光滑、致密的形貌(见图1(a)和1(b))。不含甘油的纳米金簇复合丝素薄膜的厚度较薄,为 $30 \sim 40 \mu\text{m}$ (见图1(c)),含甘油的纳米金簇复合丝素薄膜厚度为 $40 \sim 50 \mu\text{m}$ (见图1(d))。

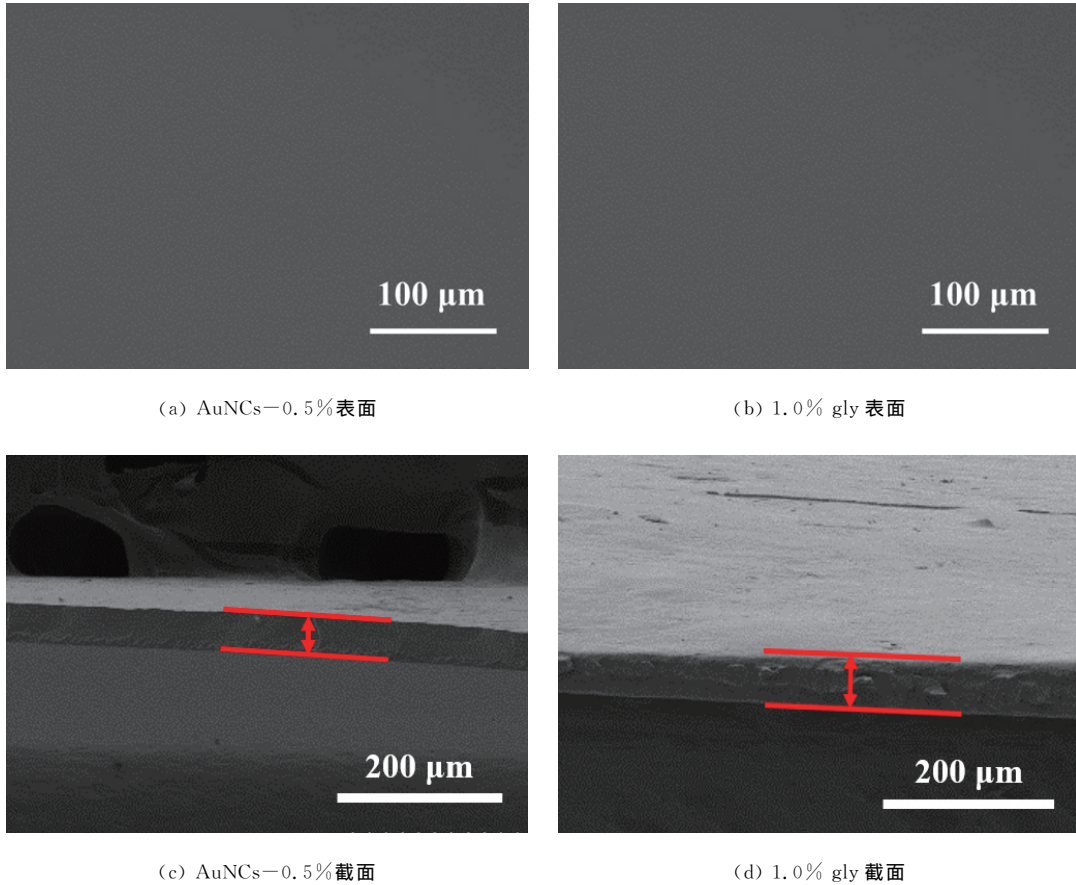
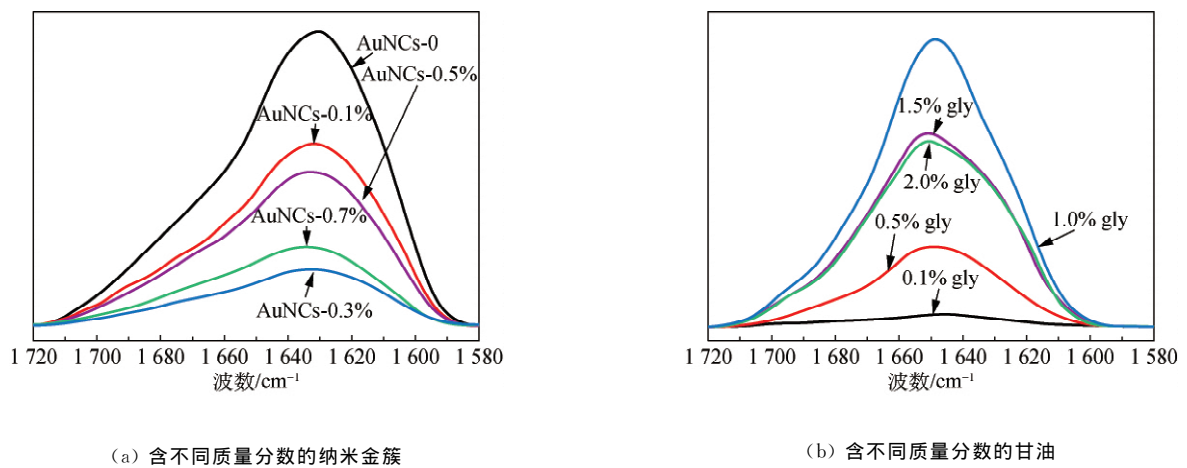


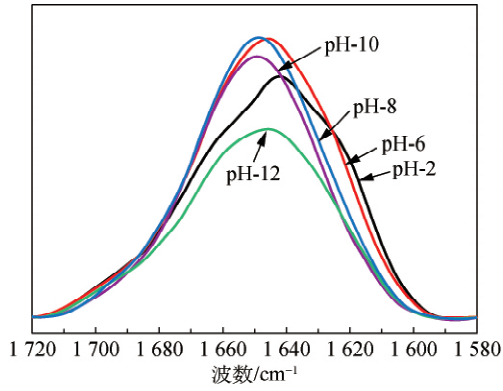
图 1 不含甘油的 AuNCs-0.5%和含甘油的 1.0% gly 纳米金簇复合丝素薄膜的 SEM 图
 Fig. 1 SEM images of gold nanoclusters silk fibroin composite films doped without glycerin (AuNCs-0.5%) and with glycerin of 1.0% (1.0% gly)

2.2 红外吸收光谱分析

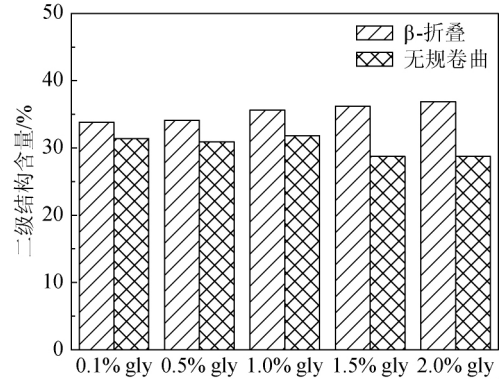
不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜红外光谱图

如图 2 所示。





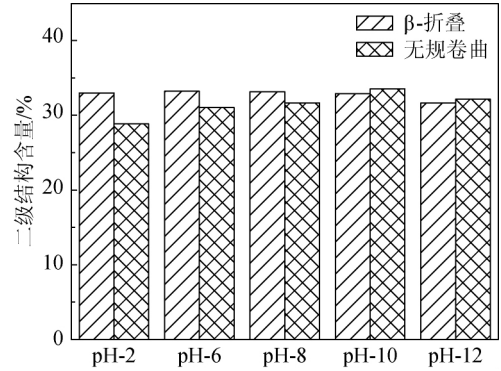
(c) 不同混合溶液 pH 值



(b) 含不同质量分数的甘油

图 2 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜红外光谱图
Fig. 2 FTIR spectra of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films

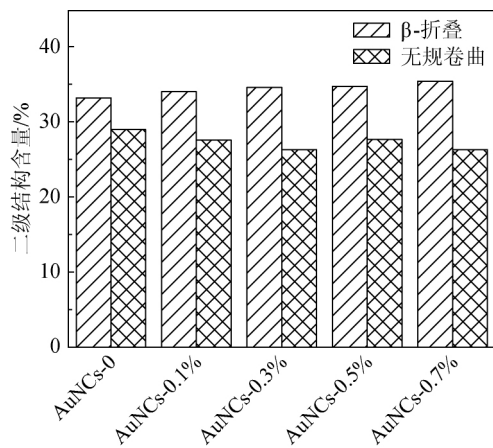
对图 2 分峰处理后得到不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的二级结构含量,结果如图 3 所示。由图 3(a)可知,加入纳米金簇后,无规卷曲构象向 β -折叠构象转变,从而无规卷曲的含量逐渐减少,促进了丝素分子间氢键的形成。由图 3(b)可知,随着甘油质量分数从 0.1% 增加到 2.0%, β -折叠含量逐渐增加。由图 3(c)可知,酸性条件下 β -折叠的含量较碱性条件下高,无规卷曲含量较碱性条件下低。综上所述,甘油与纳米金簇促使丝素分子肽链之间通过氢键结合,使丝素结构向 β -折叠转变,而混合溶液 pH 值的增加不利于肽链之间氢键的形成。



(c) 不同混合溶液 pH 值

图 3 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的 β -折叠及无规卷曲含量

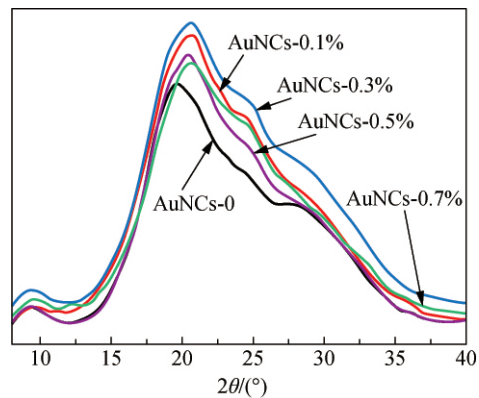
Fig. 3 Contents of β -sheet and random coil of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films



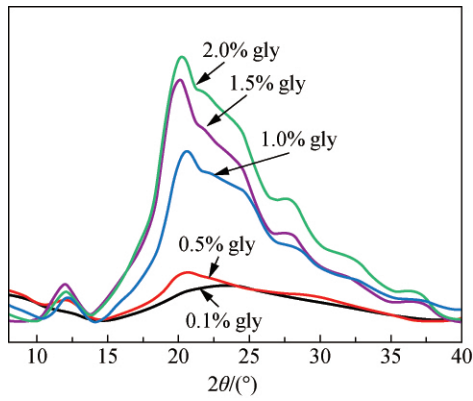
(a) 含不同质量分数的纳米金簇

2.3 X 射线衍射分析

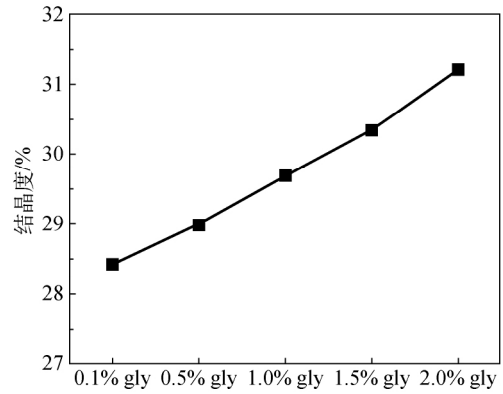
不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的 XRD 谱图如图 4 所示。



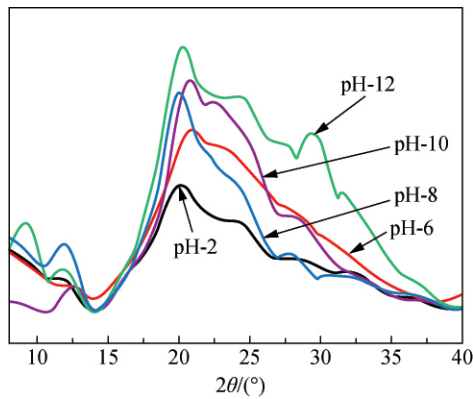
(a) 含不同质量分数的纳米金簇



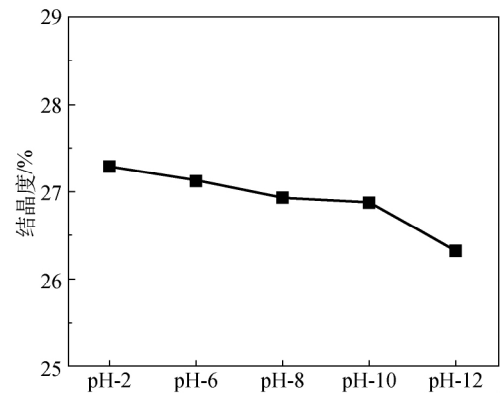
(b) 含不同质量分数的甘油



(b) 含不同质量分数的甘油



(c) 不同混合溶液 pH 值



(c) 不同混合溶液 pH 值

图 4 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的 XRD 谱图

Fig. 4 XRD spectra of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films

图 5 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的结晶度

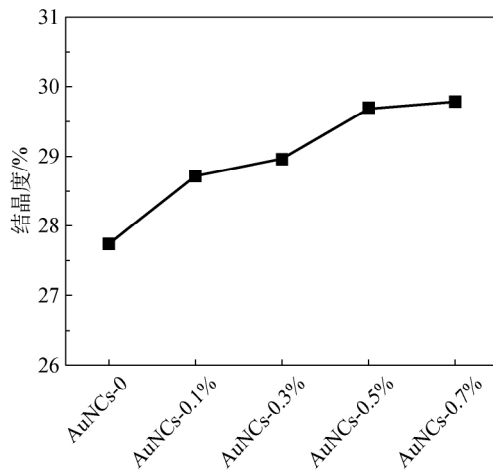
Fig. 5 The crystallinity of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films

对图 4 分峰处理后得到不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的结晶度,如图 5 所示。由图 5(a)可以看出,随着纳米金簇质量分数的增加,纳米金簇复合丝素薄膜的结晶度也随之增加。由图 5(b)可以看出,随着甘油质量分数的增加,薄膜的结晶度也逐渐增加。

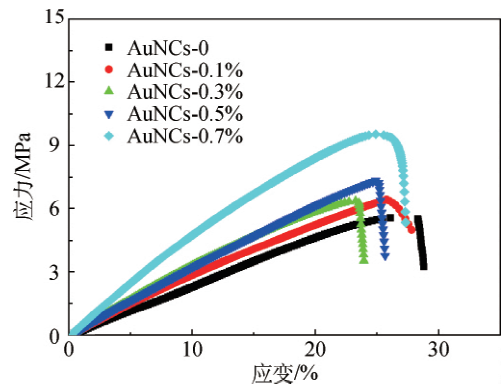
由图 5(c)可以看出,酸性条件下制备的纳米金簇复合丝素薄膜的结晶度相对较高。XRD 的分析结果与 FTIR 结果一致(见图 3 和图 5)。

2.4 力学性能分析

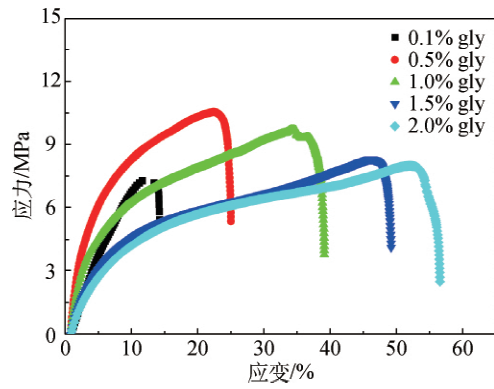
不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的力学性能如图 6 所示。



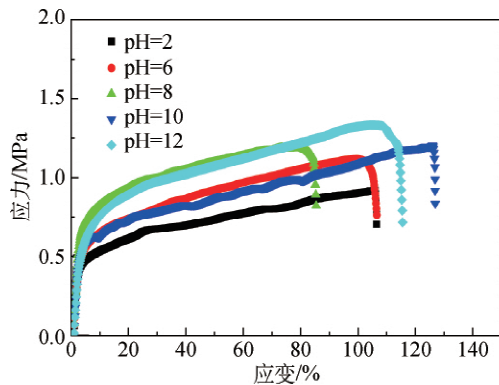
(a) 含不同质量分数的纳米金簇



(a) 含不同质量分数的纳米金簇



(b) 含不同质量分数的甘油



(c) 不同混合溶液 pH 值

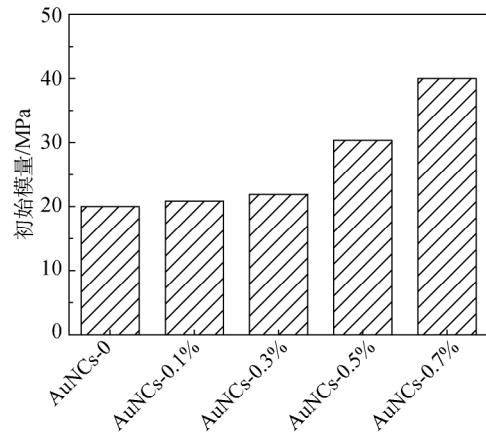
图 6 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的应力—应变关系曲线

Fig. 6 Stress-strain curves of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films

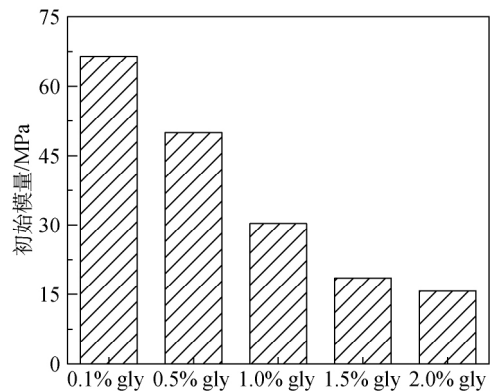
由图 6(a)可以看出,纯丝素薄膜 AuNCs-0 断裂强度较低,随着纳米金簇质量分数的增加,薄膜的断裂强度增大,纳米金簇质量分数为 0.7% 的纳米金簇复合丝素薄膜断裂强度可达约 9.5 MPa。说明纳米金簇的加入有利于提高薄膜的断裂强度,这是由于丝素分子与纳米金簇相互作用,促进丝素链形成规整排列,提高链段之间抵抗外界作用力,从而断裂强度增大。由图 6(b)可以看出,交联剂甘油加入可以优化纳米金簇复合丝素薄膜的力学性能,提高其柔韧性和塑性,随着甘油质量分数的增加,纳米金簇复合丝素薄膜的断裂强度和断裂伸长率相比纯丝素薄膜均有提高,甘油质量分数为 0.5% 的纳米金簇复合丝素薄膜具有最大的断裂强度(约 10.5 MPa)。由图 6(c)可以看出,不同混合溶液 pH 值对纳米金簇复合丝素薄膜力学性能有着不同的影响,当 pH 值调至 12 时,所对应的纳米金簇复合丝素薄膜断裂强度最高(约 10.5 MPa),断裂伸长率也相对较大(约 53%),碱性条件下的薄膜断裂强度均大于酸性条件下的薄膜。

不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的初始模量如图 7 所示。由图 7(a)可以看出,纳米金簇复合丝

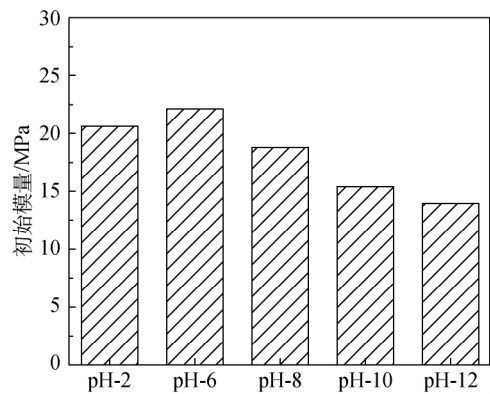
素薄膜初始模量随着纳米金簇质量分数增大而增大,薄膜较脆、塑性较差。由图 7(b)可以看出,随着甘油的质量分数增加,薄膜的初始模量逐渐减小,说明了添加甘油可以提高纳米金簇复合丝素薄膜的塑性及柔韧性。由图 7(c)可以看出,pH 值为 6 时薄膜有较大的初始模量,说明此时薄膜塑性差,相对于其他样品较脆,pH 值为 12 的薄膜初始模量低,塑性较好。



(a) 含不同质量分数的纳米金簇



(b) 含不同质量分数的甘油



(c) 不同混合溶液 pH 值

图 7 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的初始模量

Fig. 7 Initial modulus of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films

2.5 水溶性分析

复合丝素薄膜的水溶性结果如图 8 所示。

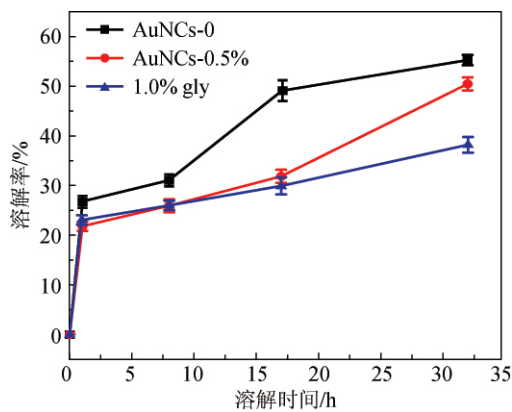
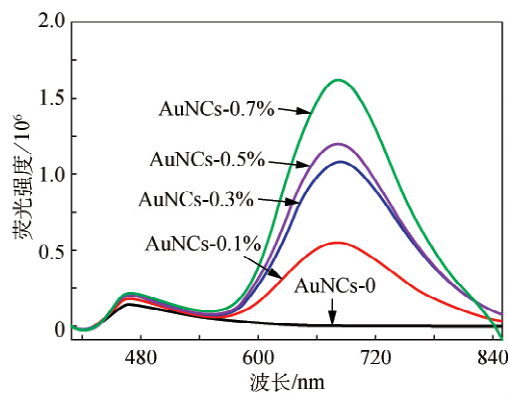


图 8 3 种纳米金簇复合丝素薄膜在水中的溶解率-时间曲线
Fig. 8 Solubility-time curves of three types of gold nanoclusters silk fibroin composite films in water

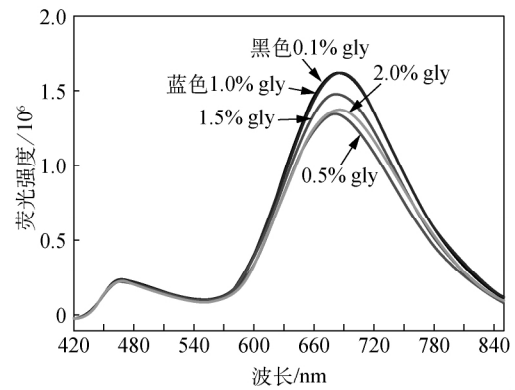
由图 8 可以看出,在 1 h 内,3 种复合丝素薄膜的溶解速率最快且相近,溶解率为 20%~30%。1 h 以后,3 种复合丝素薄膜的降解速率明显下降,纯丝素薄膜 AuNCs-0 的溶解速率相对于其他两个样品较快,在 32 h 后,溶解率已达 53%,其次是不含甘油的纳米金簇复合丝素薄膜 AuNCs-0.5%,32 h 的溶解率也已达 50%,而含甘油的纳米金簇复合丝素薄膜 1.0% gly 的溶解速率较慢,在 32 h 时,溶解率约 35%。这与纳米金簇复合丝素薄膜的结构相关,含甘油的薄膜具有更多的 β -折叠结构, β -折叠结构是难溶于水的,这样可使纳米金簇复合丝素薄膜浸泡在水中维持一定的形貌而较难被溶解。

2.6 荧光光谱分析

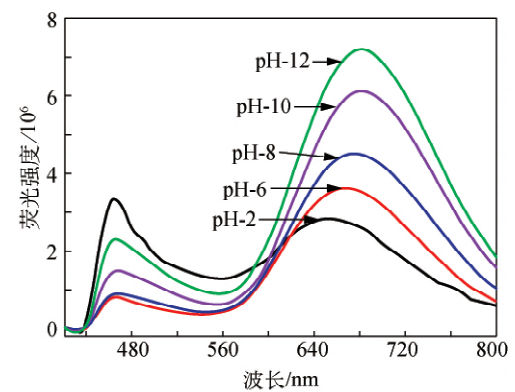
不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的荧光光谱如图 9 所示。



(a) 含不同质量分数的纳米金簇



(b) 含不同质量分数的甘油



(c) 不同混合溶液 pH 值

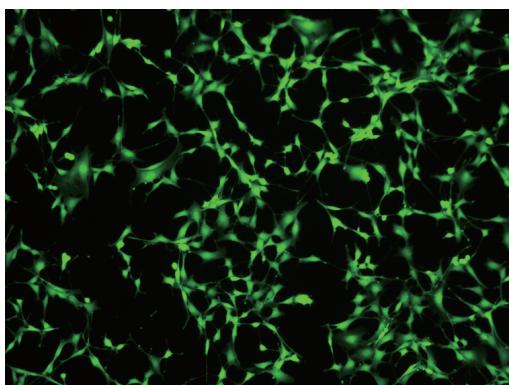
图 9 不同类型的纳米金簇复合丝素薄膜的荧光光谱图
Fig. 9 Fluorescence spectra of different types of gold nanoclusters silk fibroin composite films

由图 9(a)可以看出,在激发波长为 395 nm 时,纳米金簇复合丝素薄膜在波长为 680 nm 处出现强的发射峰,呈现红色荧光,此时纯丝素薄膜无发射峰,不发出红色荧光。纯丝素薄膜和纳米金簇复合丝素薄膜的发射谱在波长为 470 nm 处均出现发射,表现为弱蓝色荧光,随着纳米金簇的质量分数增加,波长为 680 nm 处的荧光强度也逐渐增加,而波长为 470 nm 蓝色荧光的强度没有明显的变化。由图 9(b)可以看出,加入不同质量分数的甘油后,波长为 470 nm 处特性峰位置及荧光强度不受影响,而波长为 680 nm 处,薄膜的荧光强度相差不大,说明甘油的加入并没有明显影响纳米金簇的荧光性质。由图 9(c)可以看出,波长为 470 nm 处,每个试样都具有丝素的特征发射峰,酸性条件下薄膜在波长为 680 nm 处的荧光较弱,随着 pH 值的增加,纳米金簇复合丝素薄膜的荧光强度也随之增加,这是因为合成纳米金簇的原料牛血清蛋白中具有大量巯基,碱性条件有利于增加巯基的还原性,从而增强纳米金簇的荧光性能^[17, 23]。

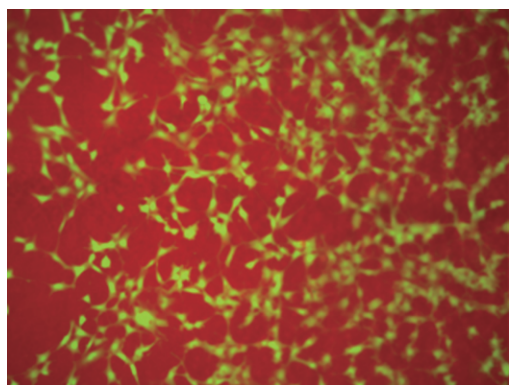
2.7 复合丝素薄膜与细胞的荧光成像

MC3T3-E1 成骨细胞在复合丝素薄膜上的荧

光成像结果如图 10 所示。其中,图 10(a)和 10(b)分别是纯丝素蛋白薄膜的细胞成像图和纳米金簇复合丝素薄膜的细胞生长情况。由图 10(a)可以看出,在激发波长为 488 nm 下,纯丝素薄膜无荧光,细胞呈现绿色荧光,细胞可以在纯丝素薄膜上正常生长,并且完全贴附于纯丝素薄膜上,细胞间具有较大的细胞密度,这说明纯丝素薄膜具有很好的生物相容性。由图 10(b)可以看出,纳米金簇复合丝素薄膜不仅具有优异的生物相容性,可以作为细胞正常生长和依附的基底,并且纳米金簇的红色荧光便于观察细胞在纳米金簇复合丝素薄膜上的生长位置及其生长情况。因此,纳米金簇复合丝素薄膜利用本身的荧光特性在生物医学上具有良好的应用前景。



(a) MC3T3-E1 成骨细胞在 AuNCs-0 复合膜上的生长情况



(b) MC3T3-E1 成骨细胞在 AuNCs-0.5%复合膜上的生长情况

图 10 MC3T3-E1 成骨细胞在不同纳米金簇复合丝素薄膜上的荧光共聚焦成像

Fig. 10 Fluorescent confocal images of MC3T3-E1 osteoblasts on different gold nanoclusters silk fibroin composite films

3 结 语

本文用简单的浇铸法制备纳米金簇复合丝素薄膜可以发出红色荧光。通过改变纳米金簇的质量分

数、甘油的质量分数以及丝素和纳米金簇混合溶液的 pH 值,用 SEM、FTIR、XRD、荧光光谱仪等表征手段研究 3 个变量对薄膜结构和性能的影响。得出如下结论:

(1) 纳米金簇在丝素薄膜中可以促使无规卷曲结构向 β -折叠转变,纳米金簇质量分数的增加使得 β -折叠的含量有所增加,结晶度也随之增加,纳米金簇复合丝素薄膜的拉伸强度和模量也同时增加。

(2) 甘油的加入不仅可以提高丝素的结晶度,还可以提高纳米金簇复合丝素薄膜的断裂伸长率和断裂强度并降低模量,即增加纳米金簇复合丝素薄膜的塑性。

(3) 酸性条件易促进 β -折叠的形成,提高薄膜结晶度。

(4) 纳米金簇复合丝素薄膜具有强荧光特性,且随着纳米金簇质量分数的增加,荧光强度逐渐增强,甘油的加入不影响纳米金簇复合丝素薄膜的荧光性质,酸性条件下容易造成纳米金簇荧光较弱,碱性条件下荧光强度较强。

(5) 纳米金簇复合丝素薄膜可实现细胞成像,由于纳米金簇的红色荧光,可同时观察到细胞和薄膜,从而观察细胞的生长位置和生长情况。

参 考 文 献

- [1] ROCKWOOD D N, PREDA R C, YUCEL T, et al. Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin [J]. Nature Protocols, 2011, 6(10): 1612-1631.
- [2] ALTMAN G H, DIAZ F, JAKUBA C, et al. Silk-based biomaterials [J]. Biomaterials, 2003, 24(3): 401-416.
- [3] VEPARI C and KAPLAN D L. Silk as a biomaterial [J]. Progress in Polymer Science, 2007, 32(8-9): 991-1007.
- [4] TAO H, KAPLAN D L, OMENETTO F G. Silk materials: A road to sustainable high technology [J]. Advanced Materials, 2012, 24(21): 2824-2837.
- [5] JIANG C Y, WANG X Y, GUNAWIDJAJA R, et al. Mechanical properties of robust ultrathin silk fibroin films [J]. Advanced Functional Materials, 2007, 17(13): 2229-2237.
- [6] MINOURA N, TSUKADA M, NAGURA M. Fine-structure and oxygen permeability of silk fibroin membrane treated with methanol [J]. Polymer, 1990, 31(2): 265-269.
- [7] MINOURA N, TSUKADA M, NAGURA M. Physicochemical properties of silk fibroin membrane as a biomaterial [J]. Biomaterials, 1990, 11(6): 430-434.
- [8] NEMOTO R, NAKAMURA S, ISOBE T, et al. Direct synthesis of hydroxyapatite-silk fibroin nano-composite sol via a mechanochemical route [J]. Journal of Sol-Gel Science and

- Technology, 2001, 21(1-2): 7-12.
- [9] AMSDEN J J, DOMACHUK P, GOPINATH A, et al. Rapid nanoimprinting of silk fibroin films for biophotonic applications [J]. *Advanced Materials*, 2010, 22(15): 1746-1749.
- [10] LAWRENCE B D, CRONIN M, GEORGAKOUDI I, et al. Bioactive silk protein biomaterial systems for optical devices [J]. *Biomacromolecules*, 2008, 9(4): 1214-1220.
- [11] LU Q, WANG X, HU X, et al. Stabilization and release of enzymes from silk films [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2010, 10(4): 359-368.
- [12] LU S, WANG X, LU Q, et al. Stabilization of enzymes in silk films [J]. *Biomacromolecules*, 2009, 10(5): 1032-1042.
- [13] TAO H, SIEBERT S M, BRECKLE M A, et al. Gold nanoparticle-doped biocompatible silk films as a path to implantable thermo-electrically wireless powering devices [J]. *Applied Physics Letters*, 2010, 97(12): 123702.
- [14] TSORIS K, TILBUREY G E, MURPHY A R, et al. Functionalized-silk-based active optofluidic devices [J]. *Advanced Functional Materials*, 2010, 20(7): 1083-1089.
- [15] AMSDEN J J, PERRY H, BORISKINA S V, et al. Spectral analysis of induced color change on periodically nanopatterned silk films [J]. *Optics Express*, 2009, 17(23): 21271-21279.
- [16] SOFIA S, MCCARTHY M B, GRONOWICZ G, et al. Functionalized silk-based biomaterials for bone formation [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2001, 54(1): 139-148.
- [17] XIE J, ZHENG Y, YING J Y. Protein-directed synthesis of highly fluorescent gold nanoclusters [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(3): 888-889.
- [18] HU X, KAPLAN D, CEBE P. Determining beta-sheet crystallinity in fibrous proteins by thermal analysis and infrared spectroscopy [J]. *Macromolecules*, 2006, 39(18): 6161-6170.
- [19] LI M Z, LU S Z, WU Z Y, et al. Study on porous silk fibroin materials I: Fine structure of freeze dried silk fibroin [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2001, 79(12): 2185-2191.
- [20] GRUBB D T, JELINSKI L W. Fiber morphology of spider silk: The effects of tensile deformation [J]. *Macromolecules*, 1997, 30(10): 2860-2867.
- [21] LONG K, LIU Y, LI W, et al. Improving the mechanical properties of collagen-based membranes using silk fibroin for corneal tissue engineering [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2015, 103(3): 1159-1168.
- [22] YANG L, YASEEN M, ZHAO X, et al. Gelatin modified ultrathin silk fibroin films for enhanced proliferation of cells [J]. *Biomedical Materials*, 2015, 10(2): 025003.
- [23] JIN R. Quantum sized, thiolate-protected gold nanoclusters [J]. *Nanoscale*, 2010, 2(3): 343-362.

(责任编辑:杜 佳)