

学校编码: 10384

分类号____密级____

学 号: 31420131150122

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

荧光金纳米簇功能化蚕丝生物材料的制备
与性能研究

Preparation and Properties of Fluorescent Gold
Nanoclusters Functionalized Silk Biomaterials

曹 丽 薇

指导教师姓名: 刘向阳 教授

专 业 名 称: 生物医学工程

论文提交日期: 2016 年 月

论文答辩时间: 2016 年 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘要

家蚕蚕丝作为天然的蛋白质纤维，具有独特的力学性能、良好的生物相容性和可控的生物降解性，已被作为生物医学理想材料。然而，蚕丝材料作为生物医学材料植入体内后，进行体内的检测和追踪仍是目前一大难点。本研究通过共混荧光金纳米簇和丝素蛋白，制备可用于体内荧光成像的蚕丝材料（3 维支架、薄膜、凝胶），为生物材料的体内成像提供了思路。本研究主要内容如下：

冷冻干燥法制备三维多孔荧光丝素蛋白/金簇复合支架。复合支架具有红色荧光，研究发现丝素蛋白/金簇混合溶液的 pH 会影响金簇的荧光强度，发射峰位和荧光效率，支架荧光量子产率可达 18 %。金簇的加入增加丝素蛋白 β -折叠和结晶度。丝素蛋白/金簇复合支架的孔洞之间相互贯通，孔隙率可达 60 %，平均孔径约 70 μm ，压缩强度可达 3 MPa。利用金簇的荧光特性，复合支架可实现体外支架成像，实时动态观察细胞在材料上的分布和生长情况。

流延法制备丝素蛋白/金簇复合荧光致密薄膜。薄膜仍可保持强荧光，甘油的加入不影响金簇的荧光，酸性容易造成金簇荧光猝灭。金簇和甘油的加入提高薄膜 β -折叠结构和结晶度。复合薄膜表面为平整、光滑致密，平均厚度在 30-50 μm ，拉伸强度可达 9.5 MPa。丝素蛋白/金簇复合薄膜可实现体内外细胞荧光成像，细胞能在复合薄膜上正常粘附和生长，表明薄膜具有良好的生物相容性。

自然成胶法制备荧光丝素蛋白/金簇复合凝胶。金簇的加入延缓蚕丝的成胶时间。高温条件下（60 $^{\circ}\text{C}$ ），容易造成金簇荧光猝灭。金簇的浓度越高，蚕丝的 β -折叠和结晶度有所降低。复合凝胶内部均呈现紧密相连的多孔结构，孔大小不均一，孔径在 2-5 μm 。

关键词：蚕丝；金纳米簇；荧光成像

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Abstract

Bombyx mori silk fibers, as a natural protein, have been adsorbing great interests in the fields of biomedicine, due to robust mechanical properties, excellent biocompatibility and controllable biodegradation. However, the monitoring of the evolution of the overall structure and organization of the materials in vivo or in vitro remains as a neck bottle for the further refinement of silk bio-materials. In this study, we prepare the fluorescent silk materials (3 dimensional scaffold, film, gel) by mixing the silk fibroin and bovine serum albumin-gold nanoclusters (BSA-AuNCs) for fluorescent imaging. The main contents are as follows:

Three-dimensional luminescent BSA-AuNCs/silk composite scaffolds were prepared by freeze-drying. They still keep high fluorescence intensity. The fluorescence intensity of the BSA-AuNCs/silk scaffolds composite scaffolds can be affected by pH during preparation. The maximum quantum yield of BSA-AuNCs/Silk scaffold can be up to 18%. BSA-AuNCs can promote the formation of β -sheet and crystallinity of scaffolds. The composites scaffolds with interconnected pore structure have about 60% of porosity and 70 μm of average pore size. In comparison of neat silk scaffold, the compressive strength and compressive modulus of BSA-AuNCs/silk scaffold increase, the maximum compressive strength reaches to 3 MPa. BSA-AuNCs/silk scaffold and cells can be monitored in real-time by fluorescence imaging technique.

The fluorescent BSA-AuNCs/Silk composite film were prepared by casting. BSA-AuNCs/Silk film has high fluorescence intensity, which can be kept after the addition of glycerol. However, fluorescence is quenched under the acidic condition. BSA-AuNCs and glycerol induce the increasement of the content of β -sheet and crystallinity in the films. The surfaces of BSA-AuNCs/silk film show smooth with the average thickness about 30-50 μm . The tensile strength and breaking energy can be enhanced with adding glycerol, the highest tensile strength of resulted film is approaching to 9.5 MPa. BSA-AuNCs/silk film also can be observed using fluorescence imaging. In

addition, the films can well support cell growth and attachment, which implies good biocompatibility.

The fluorescence BSA-AuNCs/silk composite gels were prepared by natural gel forming. BSA-AuNCs promote the gelation time of silk fibroin. The content of β -sheet and crystallinity reduces when the volume ratio of BSA-AuNCs increases. The composites gels have interconnected and uniform pore structure, and the average pore sizes are roughly 2-5 μm .

Keywords: silk, gold nanoclusters, fluorescence imaging

目 录

摘 要	I
Abstract	III
第一章 绪论	1
1.1 蚕丝的概述	1
1.2 蚕丝的结构	1
1.3 丝素蛋白生物材料	3
1.3.1 支架材料	4
1.3.2 薄膜材料	5
1.3.3 凝胶材料	6
1.4 光学功能化蚕丝材料的研究进展	7
1.4.1 基因工程	8
1.4.2 喂食法	8
1.4.3 荧光纳米材料复合法	9
1.5 金纳米簇的概述	11
1.5.1 金纳米簇的制备	12
1.5.2 金纳米簇的应用	13
1.6 本文的研究意义与研究内容	14
第二章 丝素蛋白/金簇复合支架的制备及性质研究	17
2.1 引言	17
2.2 实验部分	17
2.2.1 试剂与仪器	17
2.2.2 实验步骤	18
2.2.3 仪器表征	20

2.3 实验结果与讨论	22
2.3.1 丝素蛋白/金簇复合支架的光学性质分析	22
2.3.2 丝素蛋白/金簇复合支架的结构分析	27
2.3.3 丝素蛋白/金簇复合支架的形貌观察	33
2.3.4 丝素蛋白/金簇复合支架的力学性能分析	36
2.3.5 丝素蛋白/金簇复合支架在生物荧光成像的观察	37
2.4 本章小结	38
第三章 丝素蛋白/金簇复合薄膜的制备及性质研究	40
3.1 引言	40
3.2. 实验部分	40
3.2.1 试剂与仪器	40
3.2.2 实验步骤	41
3.2.3 仪器表征	42
3.3 实验结果与讨论	43
3.3.1 丝素蛋白/金簇复合薄膜的实物观察	43
3.3.2 丝素蛋白/金簇复合薄膜的荧光光谱分析	45
3.3.3 丝素蛋白/金簇复合薄膜的红外吸收光谱分析	47
3.3.4 丝素蛋白/金簇复合薄膜的 X-射线衍射	49
3.3.5 丝素蛋白/金簇复合薄膜的透过率观察	51
3.3.6 丝素蛋白/金簇复合薄膜的形貌观察	53
3.3.7 丝素蛋白/金簇复合薄膜的力学性能分析	55
3.3.8 丝素蛋白/金簇复合薄膜的溶解性分析	57
3.3.9 丝素蛋白/金簇复合薄膜的体外荧光成像观察	58
3.4. 本章小结	58
第四章 丝素蛋白/金簇复合凝胶的制备及性质研究	60
4.1.引言.....	60

4.2.实验方法	60
4.2.1 试剂与仪器	60
4.2.2 实验步骤	61
4.2.3 仪器表征	61
4.3. 结果与讨论	62
4.3.1 丝素蛋白/金簇复合凝胶的形态和外观观察	62
4.3.2 丝素蛋白/金簇复合凝胶的凝胶化时间影响	63
4.3.3 丝素蛋白/金簇复合凝胶的荧光光谱分析	64
4.3.4 丝素蛋白/金簇复合凝胶的红外吸收光谱分析	65
4.3.4 丝素蛋白/金簇复合凝胶的 X-射线衍射	67
4.3.4 丝素蛋白/金簇复合凝胶的形貌观察	68
4.4. 本章小结	69
第五章 结语	71
5.1 全文结论	71
5.2 相关的后续研究设想	71
参考文献	73
攻读硕士学位期间发表的论文	81
致谢	83

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Table of contents

Abstract (Chinese)	I
Abstract in English	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Summarization of Silk	1
1.2 Structure of Silk	1
1.3 Biomaterial of Silk Fibroin	3
1.3.1 Scaffolds of Silk Fibroin	4
1.3.2 Film of Silk Fibroin	5
1.3.3 Gel of Silk Fibroin	6
1.4 Functionalization of Silkworm Silk Materials in Optics	7
1.4.1 Genetically Modified Silkworms	8
1.4.2 Feeding Colored Silk	8
1.4.3 Silk Dyeing with Nanoparticles	9
1.5 Summarization of Gold Nanoclusters	11
1.5.1 Preparation of Gold Nanoclusters	12
1.5.2 Application of Gold Nanoclusters	13
1.6 Research Project Purpose and Main Content	14
Chapter 2 Preparation and Properties of Silk/AuNCs Composite Scaffolds	17
2.1 Introduction	17
2.2 Experimental	17
2.2.1 Reagents and Instruments	17
2.2.2 Experimental Procedure	18
2.2.3 Characterization	20

2.3 Results and Discussion	22
2.3.1 Optical properties of Silk/AuNCs scaffolds	22
2.3.2 Structural of Silk/AuNCs scaffolds	27
2.3.3 Morphology of Silk/AuNCs scaffolds	33
2.3.4 Mechanical Analysis of Silk/AuNCs scaffolds	36
2.3.5 Luminescent Bioimaging of Silk/AuNCs scaffolds.....	37
2.4 Summary.....	38
Chapter 3 Preparation and Properties of Silk/AuNCs Hybrid Film	40
3.1 Introduction.....	40
3.2. Experimental	40
3.2.1 Reagents and Instruments.....	40
3.2.2 Experimental Procedure.....	41
3.2.3 Characterization	42
3.3 Results and Discussion	43
3.3.1 Appearance Feature of Silk/AuNCs Hybrid Film.....	43
3.3.2 Fluorescence Spectrum Analysis of Silk/AuNCs Hybrid Film	45
3.3.3 FTIR Analysis of Silk/AuNCs Hybrid Film.....	47
3.3.4 X-ray Diffraction of Silk/AuNCs Hybrid Film.....	49
3.3.5 Transmittance of Silk/AuNCs Hybrid Film.....	51
3.3.6 Morphology of Silk/AuNCs Hybrid Film	53
3.3.7 Mechanical Analysis of Silk/AuNCs Hybrid Film	55
3.3.8 Solubility of Silk/AuNCs Hybrid Film	57
3.3.9 Fluorescent Bioimaging In Vitro of Silk/AuNCs Hybrid Film	58
3.4. Summary.....	58
Chapter 4 Preparation and Properties of Silk/AuNCs Hybrid Gel	

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.