



# 丝素蛋白基生物粘结剂的制备及性能评价

袁梅华, 刘 涵, 蔡玉荣, 姚菊明  
(浙江理工大学材料与纺织学院, 杭州 310018)

**摘 要:** 传统创口缝合方式费时费力,且容易留下疤痕,生物粘合剂为解决这些问题提供了一种有效的手段。仿照海洋生物的天然蛋白粘合剂,在聚乙二醇溶液中通过质子作用制备出一种耐水的丝素蛋白基生物粘合剂(SFB),考察了各个反应参数对该生物粘结剂的形貌、结构、粘结性能及体外降解性能的影响。实验结果表明:制得的丝素蛋白生物粘合剂具有大孔结构,通过改变丝素含量、pH 和作用时间,可以调整 SFB 的粘合强度。所制得的 SFB 在干态环境中的粘合强度为 120 kPa,在湿态环境中的粘合强度为 150 kPa,且具有较好的降解性能。该生物粘合剂在创口闭合方面具有可观的应用前景。

**关键词:** 丝素蛋白;创口修复;降解;粘性;耐水

中图分类号: TB34

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2019)07-0413-08

## Preparation and properties of silk fibroin based bioadhesive

YUAN Meihua, LIU Han, CAI Yurong, YAO Juming

(College of Materials and Textiles, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** Traditional wound suturing method is time-consuming and labor-consuming, and may easily cause scars on the tissue. Bioadhesives provide an effective means of solving these problems. A water-immiscible silk fibroin based bioadhesive (SFB) was prepared by taking inspirations from the natural protein-based adhesives of marine organisms with the assistance of polyethyleneglycol (PEG) solution. The influence of each reaction parameter on morphology, structure, adhesive property and in-vitro degradation property of the bioadhesive was investigated. The results showed that the prepared SFB exhibited macroporous structure. The adhesive strength of SFB could be adjusted through changing fibroin content, pH and action time. The adhesive strength of SFB in the dry environment was about 120 kPa and that in the wet environment was about 150 kPa. These findings presented herein showed good degradation property of SFB. Therefore, SFB has a great application prospect in wound closure.

**Key words:** silk fibroin; wound repair; degradation; viscosity; water resistance

## 0 引 言

外科手术中有一半的伤口是用传统方式封闭的,如缝合线和吻合器,具有一定的技术难度,耗时长,且容易对周围健康组织造成伤害<sup>[1-2]</sup>。此外,缝合线或吻合器不适合用于修复薄壁组织缺损(例如

肺、肝或肾等)。对于外科手术而言,如果缝合不严密,易导致继发性组织损伤、微生物感染<sup>[3]</sup>。生物粘合剂是一种用于防止组织粘连、止血、手术中防止空气和体液泄漏的生物医学材料。作为一种新的闭合材料,生物粘合剂具有瞬间粘合、操作方便、生物相容性好和避免缝合疤痕等优点<sup>[4]</sup>。目前,临床上使

收稿日期:2018-09-12 网络出版日期:2018-12-01

基金项目:国家自然科学基金项目(51672251)

作者简介:袁梅华(1993-),女,浙江杭州人,硕士研究生,主要从事生物材料方面的研究。

通信作者:姚菊明,Email:yaoj@zstu.edu.cn

用的粘合剂以氰基丙烯酸酯聚合物和纤维蛋白胶为主。氰基丙烯酸酯聚合物从体外粘合皮肤,降解会产生有毒气体甲醛,在水环境中粘合性弱。纤维蛋白胶粘性较弱,体内降解快,易流失<sup>[5]</sup>。因此这两类粘合剂的应用均受到了限制。

为了解决当前各类粘合剂存在的诸多问题,科研人员开始关注以贻贝为典型代表的海洋生物的粘附行为,期望从仿生的角度研发出理想的生物粘合剂<sup>[6-7]</sup>。研究表明,以海洋贻贝粘附蛋白为原材料制备的天然生物粘合剂与人工合成的材料相比,具有更优异的粘结强度和耐水性。然而,由于天然贻贝粘附蛋白的直接提取法和 DNA 基因重组技术存在工艺繁琐、低产率和高成本等问题,极大地限制了仿贻贝材料的发展<sup>[8]</sup>。因此,近年来一些天然、合成的生物高分子材料被用来制备生物粘合剂,例如丝素蛋白。丝素蛋白是一种天然高分子材料,具有一定的力学强度和良好的生物相容性,已应用于电子产品<sup>[9]</sup>、药物纳米载体<sup>[10-11]</sup>、智能传感器<sup>[12]</sup>以及伤口愈合<sup>[13-14]</sup>等多个研究领域。Lu 等<sup>[15]</sup>通过电解久置的丝素蛋白溶液,发现在正极富集形成一种具有粘性的丝素蛋白水凝胶,但是存在产率低和凝胶状态不稳定等问题,限制了其进一步的发展。

本文通过可批量化生产的方法制备出一种耐水的丝素蛋白基生物粘合剂(Silk fibroin based bioadhesive, SFB),探讨了丝素含量、pH、作用时间和环境对水凝胶的粘结性能的影响,并对其形貌、结构和体外降解进行表征。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验试剂与仪器

实验试剂:蚕茧购自湖州新天丝生物技术有限公司,溴化锂和聚乙二醇(平均分子量为  $2 \times 10^4$  g/mol)购自阿拉丁试剂(上海)有限公司,盐酸购自天津市科密欧化学试剂有限公司,蛋白酶 XIV 购自 GIBCO 公司,新鲜猪皮购自当地超市。

仪器: PBI 型 pH 计(Sartorius),纯水仪(Millipore Milli-Q Biocel),J-25 高速冷冻离心机(New Brunswick Scientific Co., INC),U101 超低温冰箱(New brunswick Anependorf),ALPHA 1-2LD 冷冻干燥机(BMH Instruents Co., LTD),恒温箱(EYEL4, LEY-700),S-4800 型场发射扫描电镜(日本 Hitachi 公司),傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Electron 公司),5943 型材料试验机(Instron, a Division of Illinois Tool Works Inc)。

### 1.2 再生丝素蛋白溶液的制备

将剪碎的蚕茧在 0.02 mol/L 的碳酸钠溶液中煮沸 30 min 后用超纯水洗净,重复两次,置于 60 °C 烘箱中干燥,得脱胶后的丝素纤维。称取 15 g 的丝素纤维溶解于 100 mL 浓度为 9.3 mol/L 的 LiBr 溶液中,在 60 °C 烘箱中放置 4 h。将溶解的丝素溶液倒入透析袋中,用去离子水透析 3 d,每隔 12 h 更换去离子水,再通过离心去除不溶物得透明的丝素溶液。将离心所得再生丝素蛋白溶液置于透析袋中,在 10% (w/w) 的聚乙二醇溶液中透析过夜即得到 8% (w/w) 左右的丝素蛋白溶液(Silk fibroin solution, SFS),置于 4 °C 冰箱保存备用<sup>[16]</sup>。

### 1.3 丝素蛋白基粘剂的制备

配置质量分数为 10% 的聚乙二醇(PEG)溶液,将溶液用 0.22 μm 一次性针头过滤器进行过滤备用。配置 0.1 mol/L 的稀 HCl 溶液备用。在室温((25±3) °C)下,取出制备好的 8% SFS 和 10% PEG 溶液分别按  $M_{SF} : M_{PEG}$  为 18:2, 16:4, 14:6, 12:8, 10:10 (w/w) 的配比进行混合,再向混合溶液中滴加 0.1 mol/L 的稀 HCl 溶液调节 pH 至 4.0,在室温下缓慢搅拌至形成凝胶,用超纯水洗涤三次以上,得 SFB。研究丝素(SF)含量对 SFB 粘结性能的影响,选择最优的配比作为下一步研究的工艺条件。

在室温下,8% SFS 和 10% PEG 溶液以最优配比进行混合,滴加 0.1 mol/L 的稀 HCl 溶液将混合溶液的 pH 分别调节至 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5,在室温下缓慢搅拌至形成凝胶,用超纯水洗涤三次以上,得到 SFB。研究 pH 对 SFB 粘结性能的影响,选择最优的 pH 作为下一步研究的工艺条件。

在室温下,8% SFS 和 10% PEG 溶液以最优配比进行混合,将混合溶液调节至最优 pH,在室温下缓慢搅拌至形成凝胶,用超纯水洗涤三次以上,得到 SFB。将 SFB 粘结两片猪皮后在室温下分别放置 0、15、30 min 和 60 min,研究时间对 SFB 粘结性能的影响。

在室温下,8% SFS 和 10% PEG 溶液以最优配比进行混合,将混合溶液调节至最优 pH,在室温下缓慢搅拌至形成凝胶,用超纯水洗涤三次以上,得到 SFB。分别在室温空气环境和水环境下用猪皮粘合两片猪皮并浸泡 2 h,研究干湿态对 SFB 粘结性能的影响。

### 1.4 形貌结构分析

在室温下,以不同的  $M_{SF} : M_{PEG}$ , pH 为 4.0 制备得到 SFB 样品,利用 S-4800 型场发射扫描电镜

(FE-SEM)进行形貌分析。

利用傅里叶红外变换衰减全反射红外吸收光谱仪(FTIR,美国 Thermo Electron)对在室温下放置了不同时间的 SFB 进行结构分析。

### 1.5 粘结性能测试

采用配备 1000 N 测力传感器的材料试验机(Instron,型号 5943),通过美国材料与试验协会(ASTM)标准方案 F2255 定义的猪皮搭接剪切测试来测定样品的粘结性能。从当地市场购买新鲜猪皮,去除脂肪层,并切成矩形块(4.0 cm×1.0 cm×1.5 mm)。在 4 °C 下,将切好的猪皮片置于超纯水中浸泡过夜,并在测试之前使其温热至室温((25±3) °C)。在粘合步骤中,首先将新制备的 SFB 添加到猪皮片的内表面一端,再将另一块猪皮片立即覆盖在前一片上,使其重叠区域为 1.0 cm×1.0 cm×1.0 mm,用手指施加轻微压力约 5~10 s 以增强粘附力。在室温下进行拉伸(如图 1 所示),拉伸速率为 1 mm/min,均测试 3 个平行样。

### 1.6 体外降解

将 5 mm×5 mm×5 mm 的凝胶块置于含有 0.1 μ/mL 蛋白酶 XIV 的 PBS 溶液于 37 °C 温育,以不含蛋白酶 XIV 的 PBS 溶液为空白样。将样品( $n=3$ )在 PBS 溶液(浴比 1:100)中温育 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 d 和 55 d,所有降解样品每天在固定时间替换新鲜溶液。将降解产物在 60 °C 下干燥,称量样品的质量变化,剩余质量保留率  $R_M$  的计算公式如式(1):

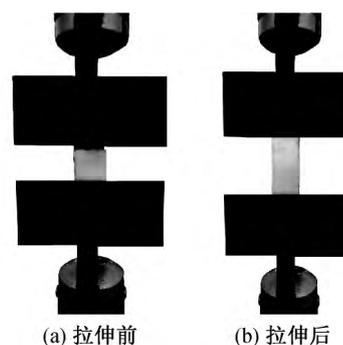


图 1 猪皮粘合拉伸测试的示意

$$R_M/\% = \frac{M_{dt}}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

其中: $M_i$  为初始的质量,mg; $M_{dt}$  为  $t$  天后保留的质量,mg。

## 2 结果与讨论

### 2.1 丝素含量对 SFB 形貌的影响

通过改变丝素含量制备得到的粘合剂的 SEM 照片如图 2 所示。从图 2 中可以看出粘合剂是多孔结构,整体形态为随机取向的网状结构。此外,图 2 显示随着丝素含量的减少,制备得到的粘合剂的孔隙越大,当  $M_{SF}:M_{PEG} = 18:2$  时,孔的大小为 100 μm,当  $M_{SF}:M_{PEG} = 10:10$  时,孔的大小为 300 μm。这与凝胶形成的速度有关<sup>[17]</sup>。随丝素蛋白的浓度的增加,丝素蛋白分子中的物理交联形成的更容易,这些孔洞会变小。孔径大小对材料的力学性能有重要的影响。因为孔的尺寸越小,当凝胶受力时压力越能均匀分散,从而能抵抗应力集中<sup>[18]</sup>。

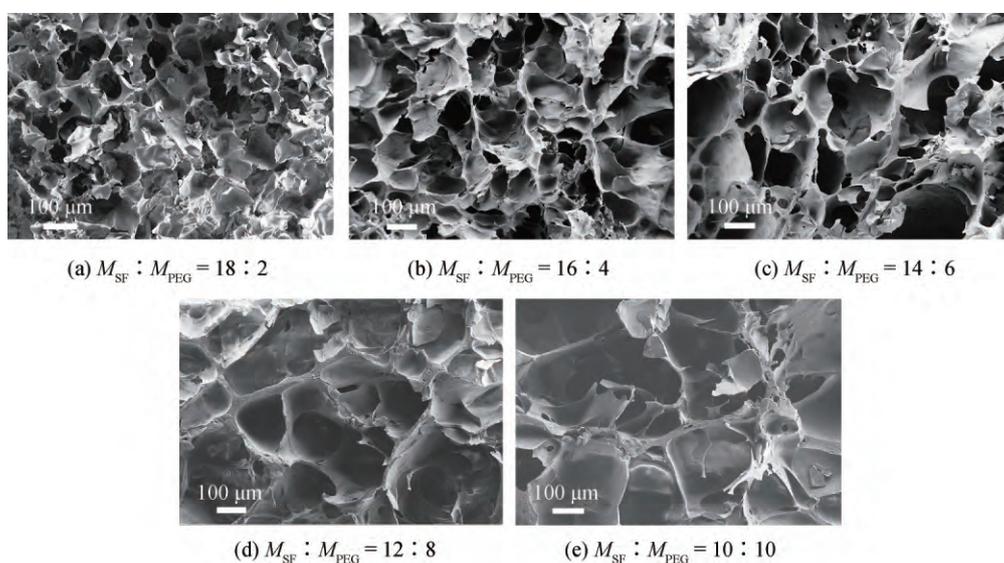


图 2 不同丝素含量制备的粘合剂的扫描电镜图

## 2.2 胶凝过程中 SFB 的构象变化

在室温(25 °C)下,将 SF 和 PEG 按  $M_{SF}:M_{PEG}=16:4$  混合调节 pH 至 4.0 制备得到的 SFB 放置不同时间(15、30 min 和 60 min)后冷冻干燥,得 SFS、SFB-15 min、SFB-30 min、SFB-60 min 的红外光谱如图 3 所示。再生丝素蛋白溶液的酰胺 I 和酰胺 II 振动带分别出现在 1658  $\text{cm}^{-1}$  和 1546  $\text{cm}^{-1}$  处,为典型的无规卷曲结构。样品 SFB-15 min 的酰胺 I 和酰胺 II 的吸收峰与 SFS 样品基本一致,

说明在聚乙二醇的帮助下,通过质子的作用加速丝素蛋白凝胶化的初期,丝素蛋白的构象并未发生明显的变化。SFB-30 min 的酰胺 I 和酰胺 II 振动吸收峰明显向低波数移动,SFB-60 min 的酰胺 I 和酰胺 II 振动带分别出现在约 1632  $\text{cm}^{-1}$  和 1521  $\text{cm}^{-1}$  处,为  $\beta$ -折叠结构。结果表明,随着反应时间的增加,丝素蛋白的二级结构逐渐从无规卷曲结构向  $\beta$ -折叠结构转变。这种结构的转变利于提高其力学性能<sup>[19]</sup>。

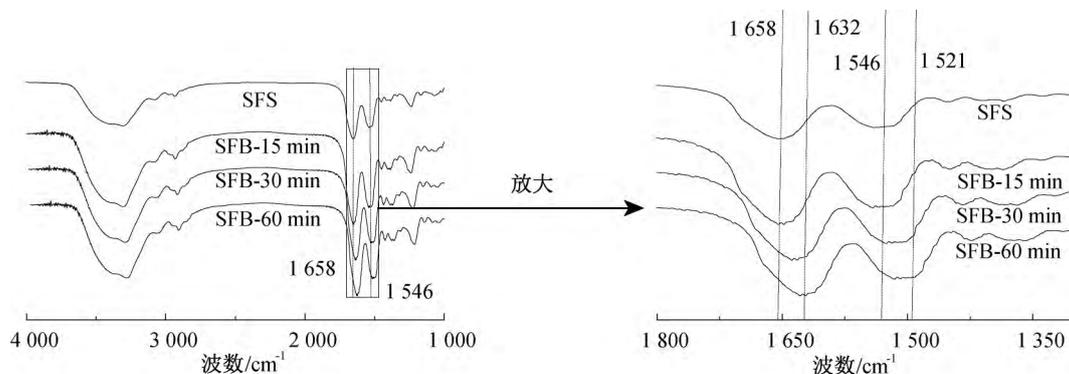


图3 丝素蛋白基生物粘结剂的红外光谱图

## 2.3 生物降解性

作为生物粘结剂,其本身必须具有良好的生物降解性,根据使用目的或者在完成其胶接使命后能完全生物降解,并被吸收、代谢出体外。在室温下,将 SF 和 PEG 按  $M_{SF}:M_{PEG}=16:4$  混合调节 pH 至 4.0 制备得 SFB,冷冻干燥,并切成块状。在 37 °C 下,SFB 在蛋白酶 XIV 溶液中的体外降解结果如图 4 所示。从图 4 中看出 SFB 在 PBS 缓冲溶液中随着时间降解十分缓慢,第 55 d 时只降解了 8.4%。SFB 在蛋白酶 XIV 溶液中降解分为 3 个阶段:第一阶段(0~25 d),降解速度较缓慢,第 25 d 时剩余重量为 58.69%;第二阶段(25~35 d),降解速度变快,第 35 d 时还剩下 17.12% 未降解;第三阶段(35~55 d),降解速度减缓,当第 55 d 时,基本降解完全了。这样的时间跨度有利于伤口的愈合,在第一个阶段,粘合剂可以将组织的粘附固定在一起,以避免开裂,同时降解缓慢。残留的粘合剂成分能够在伤口愈合的最后阶段完全降解。

## 2.4 SFB 的粘合机理

丝素蛋白是一种富含疏水性嵌段的共聚物,并通过很多亲水嵌段进行连接。丝素蛋白的结晶区主要由甘氨酸-X 重复组成,其中 X 是丙氨酸,丝氨酸,苏氨酸或缬氨酸。这些氨基酸均存在大量的  $-\text{NH}_2$ ,易形成氢键<sup>[20]</sup>。尽管目前丝素蛋白黏结剂

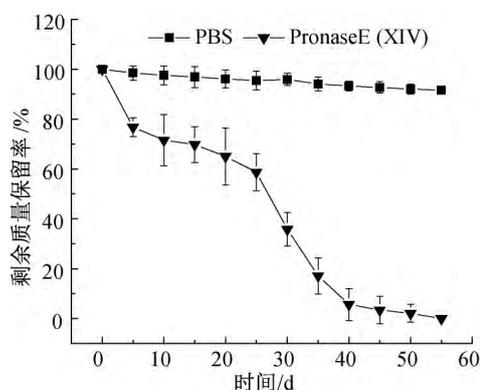


图4 SFB的剩余质量保留率随时间的变化

的黏结机理尚不完全清楚,但是笔者认为,丝素蛋白黏结剂分子间氢键及分子间范德华力对其粘性的产生以及粘性的大小有着重要作用。SFB 黏结剂可能是通过氢键作用和分子间范德华力将猪皮粘结起来,与 Eslah 等<sup>[21]</sup>的报道相一致。此外,当新制的 SFB 涂覆到猪皮表面时,SFB 会渗透到猪皮内表皮的空隙中,固化后就像有许多铆钉连接在粘合剂与猪皮之间,增加了两者的接触面积,从而提高了粘合强度<sup>[22]</sup>。此外,猪皮粗糙的表面也可增大其与 SFB 的接触面积,从而形成牢固的黏结。

## 2.5 反应条件对 SFB 粘结性能的影响

### 2.5.1 丝素含量对 SFB 粘结性能的影响

适宜的粘合强度可以有效地粘合伤口,避免缝合不严密、继发性组织损伤等,因此粘合强度是保证

实际应用的重要指标之一。图 5 是随丝素含量的增加,制备得到的粘合剂的拉伸强度、断裂伸长率的变化趋势。从图 5 中可以看出,由较低丝素含量制备得到的粘合剂具有较低的拉伸强度,样品  $M_{SF} : M_{PEG} = 10 : 10$  的拉伸强度仅为  $(54.7 \pm 5.8)$  kPa。随着丝素含量的增加,制备所得的粘合剂的拉伸强度逐渐增大,样品  $M_{SF} : M_{PEG} = 16 : 4$  的拉伸强度为  $(91.3 \pm 14.3)$  kPa,再增加丝素含量时,拉伸强度增加得不明显,当  $M_{SF} : M_{PEG} = 18 : 2$  时制备的样品的

拉伸强度为  $(93.1 \pm 5.5)$  kPa。拉伸强度的变化趋势与其丝素蛋白凝胶的内部结构有关,由于当丝素含量较高,使得丝素分子链间的交互作用增加,凝胶化的时间自然缩短<sup>[23]</sup>,形成孔隙较小的凝胶,因此当该粘性凝胶受到剪切力时,力越能均匀分散,使其抗拉强度增强。断裂伸长率随着丝素含量的增加而呈递增的趋势, $M_{SF} : M_{PEG} = 18 : 2$  时制备的样品的断裂伸长率为  $(67.5 \pm 2.9)\%$ ,具有较高的弹性。综合考虑拉伸强度,这里  $M_{SF} : M_{PEG}$  选择 16:4。

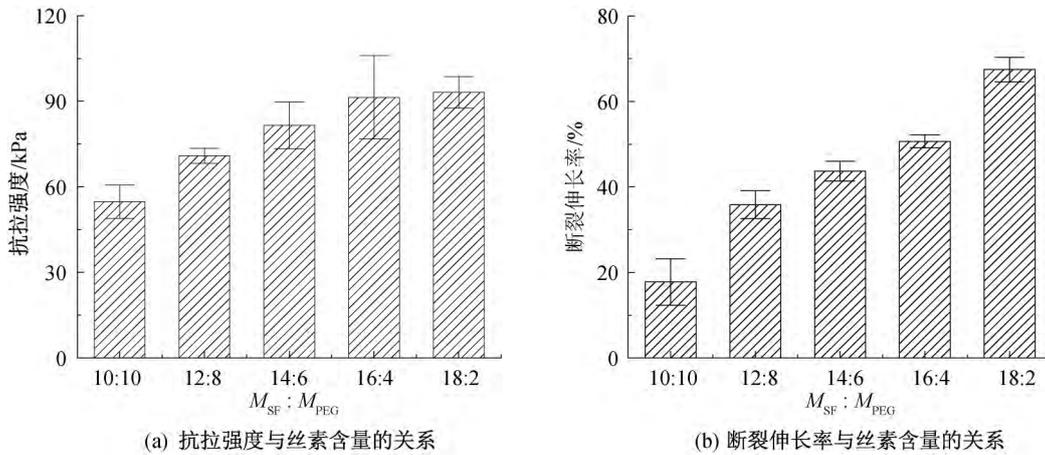


图 5 不同丝素含量制得的 SFB 的粘结性能

2.5.2 pH 值对 SFB 粘结性能的影响

不同 pH 值条件下制备的 SFB 的拉伸强度和断裂伸长率如图 6 所示。由图 6 可以看到,当 pH 值为 4.0 时制备得到 SFB 具有较高的拉伸强度为  $(93.3 \pm 16.6)$  kPa。因为当丝素溶液的 pH 值等于等电点(3.8~4.0)时,螺旋构象增多,形成亚稳态的纳米粒子,能量最低效应使丝素蛋白更容易团聚成凝胶态,此时形成的凝胶结构均一稳定,力学强度较

高<sup>[24]</sup>。当 pH 降低至 3.5 或升高至 4.5 时,所制得的 SFB 的拉伸强度均有所降低。当 pH 值继续升高至 5.0 时,所制得的 SFB 的拉伸强度明显大幅度下降,为  $(50.7 \pm 6.7)$  kPa。相比较而言,断裂伸长率的变化没有这么明显,也是先增加后减小。在 pH 值为(4.5~5.5)时,断裂伸长率基本上在 62% 左右,在该 pH 值范围下制备得到的 SFB 具有较好的弹性。综合考虑拉伸强度,这里选取 pH 为 4.0。

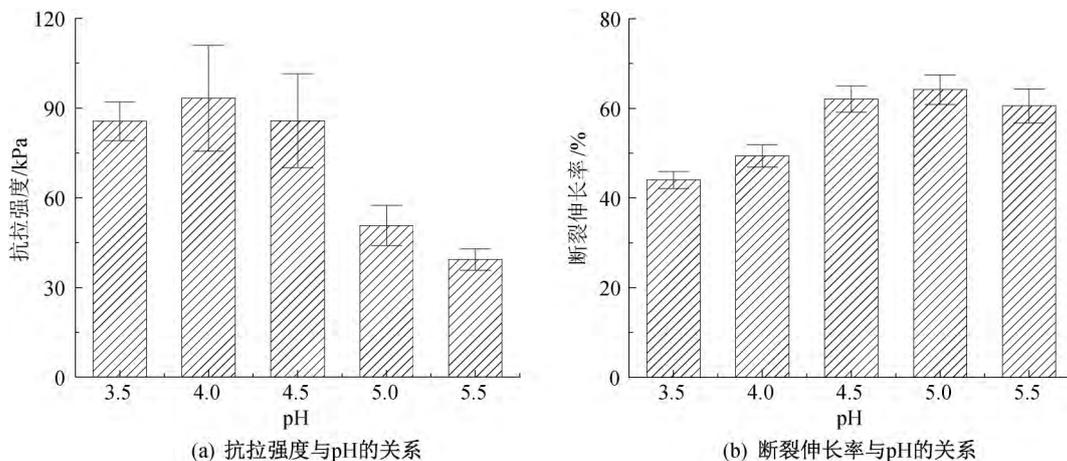


图 6 不同 pH 制得的 SFB 的粘结性能

### 2.5.3 时间对 SFB 粘结性能的影响

图 7 显示的是 SFB 的粘合强度随着时间的变化情况。从图 7 中可以看到随着时间的推移, SFB 的粘合强度在逐渐增加。0~30 min 之间粘合强度的递增幅度较大, 30~60 min 之间明显递增幅度减

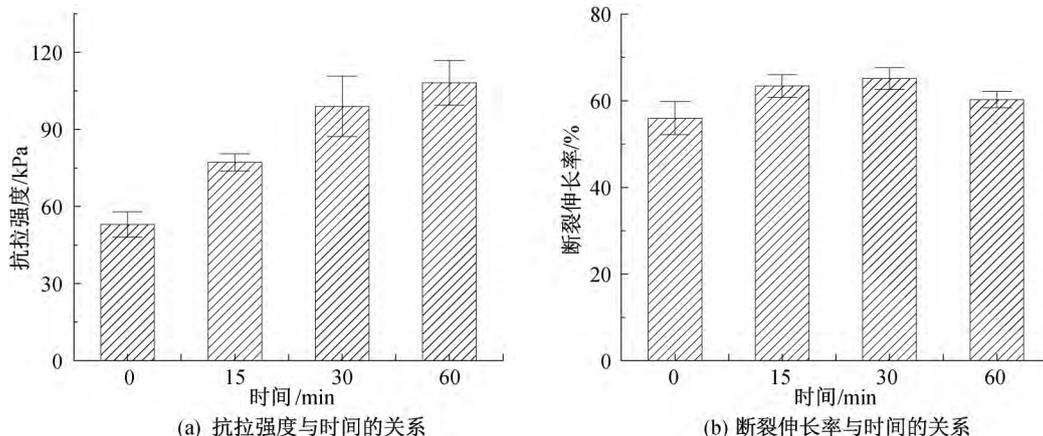


图 7 不同时间的 SFB 的粘合强度

### 2.6 环境对 SFB 粘结性能的影响

生物粘合剂在研究过程中具有一个主要障碍, 即水下性能差, 其会在水中膨胀而失去其粘性。通常, 在人体内使用粘合剂的部位充满水状体液, 由于较低的粘合驱动力, 难以用粘合剂来粘合组织, 因此耐水性也是生物粘结剂的重要指标之一。SFB 直接应用于空气中和水下的砝码 (5、10、20 g 和 50 g) 表面示意如图 8 所示, 说明 SFB 具有与水不混溶的性质且在水下也具有优异的粘性。然而, 由于浮力的影响, 粘合剂可承受的重量小于砝码的重量。于是利用猪皮搭载拉伸测试来测量浸泡过水后的 SFB 的粘结性能。

在水中, 将 SF 和 PEG 按  $M_{SF} : M_{PEG} = 16 : 4$  混合调节 pH 为 4.0 制备的 SFB 涂覆到猪皮片的内表面一端, 再将另一块猪皮片立即覆盖在前一片上, 重叠面积为  $1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$ , 用手指施加轻微压力约 5~10 s。将制好的样浸泡 2 h 后, 取出并拭去表面残余的溶液, 在室温下进行拉伸测试其粘结性能。如图 9 所示, 干态和湿态下 SFB 的粘合强度分别为

缓。这可能是由 SFB 中  $\beta$ -折叠转变引起, 与红外谱图中  $\beta$ -折叠转变变化相一致。当经过 60 min 后, SFB 的粘合强度为  $(108.1 \pm 8.7) \text{ kPa}$ , 比初始的粘合强度增加了一倍。而断裂伸长率基本上维持在 60%~65%。

( $124.1 \pm 3.8$ ) kPa、( $152.2 \pm 11.4$ ) kPa, 可以看出 SFB 在湿态下具有更优异的粘结强度, 并且湿态下的断裂伸长率也比干态下大, 说明 SFB 在湿态下能更好地保持弹性。查阅相关文献(表 1), SFB 的粘结强度与 Guo 等<sup>[26]</sup> 研制 AbAf iCs ( $168.2 \pm 17.0 \text{ kPa}$ ) 的粘结强度接近。表 1 中的纤维蛋白胶是目前临床上正在使用的生物黏结剂, 在神经修复、胃肠道、局部伤口和眼科等方面已经获得广泛应用<sup>[25]</sup>, 其黏结强度约为 10 kPa 或更低。良好的耐水性能进一步支持在外科手术期间使用 SFB 的可能性。

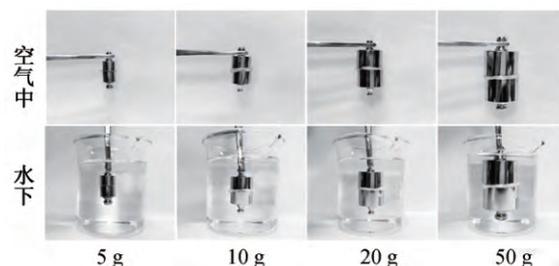


图 8 干湿态下 SFB 的砝码示意

表 1 已报道的聚合物粘合剂的粘合强度

粘合剂	测试条件与时间	最大粘结强度/kPa	文献
AbAf iCs	潮湿, 2 h	$168.2 \pm 17.0$	Guo 等 <sup>[26]</sup>
iCMBA	潮湿, 2 h	$123.2 \pm 13.2$	Mehdizade 等 <sup>[27]</sup>
LAMBA	RT, 2 h, PBS	$72.2 \pm 3.7$	Jeon 等 <sup>[28]</sup>
DCTA (gelatin macromer, $\text{Fe}^{3+}$ , genipin)	$37^\circ\text{C}$ , 2 h	$24.7 \pm 3.3$	Fan 等 <sup>[29]</sup>
纤维蛋白胶	$37^\circ\text{C}$ , 24 h	$\sim 10.0$	Burke 等 <sup>[30]</sup>
SFB	RT, 2 h	$152.2 \pm 11.4$	

注: 粘结强度的测试方法均采用猪皮搭载测试。

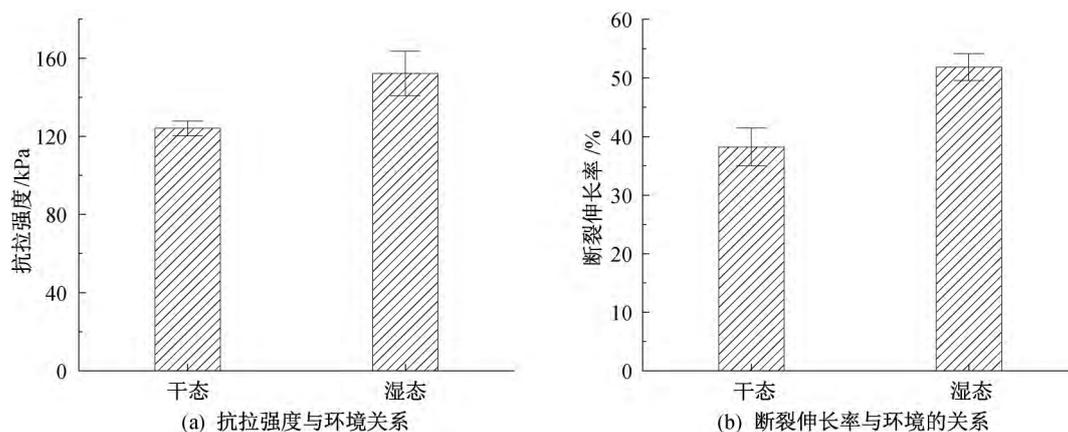


图9 干湿态下 SFB 的粘结合能

### 3 结论

在聚乙二醇溶液中制备得到丝素蛋白水凝胶, 通过改变丝素含量、pH 值和作用时间可以调整其粘结合能。随着丝素含量的增加、pH 值(5.5~4.0)的降低和作用时间的增加, 凝胶的粘结合能呈现增大的趋势。SFB 在干态和湿态环境中均表现出较好的粘结合能, 在干态环境中的粘结合能为 120 kPa, 在湿态环境中的粘结合能为 150 kPa, 与已经报道过的生物粘结合剂相比, 该粘结合剂具有较好的耐水性。并且该粘结合剂具有较好的降解性能, 在伤口愈合方面具有可观的医用前景。

#### 参考文献:

- [1] Bré L P, Zheng Y, Pêgo A P, et al. Taking tissue adhesives to the future: From traditional synthetic to new biomimetic approaches[J]. *Biomaterials Science*, 2013, 1(3): 239-253.
- [2] Miguel S P, Figueira D R, Simões D, et al. Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2018(169): 60-71.
- [3] Duarte A P, Coelho J F, Bordado J C, et al. Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast[J]. *Progress in Polymer Science*, 2012, 37(8): 1031-1050.
- [4] 王敏, 龚文辉, 黄鹏, 等. 一种新型可降解蓝光固化医用粘结合剂的合成及其性能研究[J]. *合成化学*, 2017, 25(7): 585-590.
- [5] Bhagat V, Becker M L. Degradable adhesives for surgery and tissue engineering[J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(10): 3009-3039.
- [6] Stewart R J, Ransom T C, Hlady V. Natural underwater adhesives[J]. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 2011, 49(11): 757-771.
- [7] Burke K A, Roberts D C, Kaplan D L. Silk fibroin aqueous-based adhesives inspired by mussel adhesive proteins[J]. *Biomacromolecules*, 2015, 17(1): 237-245.
- [8] 艾宇飞. 仿贻贝粘附蛋白生物粘结合剂的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2014: 1-168.
- [9] Zhu B, Wang H, Leow W R, et al. Silk fibroin for flexible electronic devices [J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(22): 4250-4265.
- [10] Huang D, Wang L, Dong Y, et al. A novel technology using transscleral ultrasound to deliver protein loaded nanoparticles[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2014, 88(1): 104-115.
- [11] Jun W, Lin L, Yurong C, et al. Recent advances of calcium phosphate nanoparticles for controlled drug delivery [J]. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(10): 1501-1507.
- [12] Burke K A, Brenckle M A, Kaplan D L, et al. Evaluation of the spectral response of functionalized silk inverse opals as colorimetric immunosensors[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(25): 16218-16226.
- [13] Deng A, Yang Y, Du S, et al. Electrospinning of in situ crosslinked recombinant human collagen peptide/chitosan nanofibers for wound healing[J]. *Biomaterials Science*, 2018, 6(8): 2197-2208.
- [14] Selvaraj S, Fathima N N. Fenugreek incorporated silk fibroin nanofibers—A potential antioxidant scaffold for enhanced wound healing[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(7): 5916-5926.
- [15] Lu Q, Huang Y, Li M, et al. Silk fibroin electrogelation mechanisms [J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(6): 2394-2400.
- [16] Kim U J, Park J, Kim H J, et al. Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(15): 2775-2785.

- [17] 刘迪, 许宗溥, 杨明英, 等. 丝素蛋白水凝胶的凝胶机理及改性方法研究进展[J]. 蚕业科学, 2018(1): 023.
- [18] 邓春闽, 左保齐. 再生丝素蛋白水凝胶[J]. 现代丝绸科学与技术, 2012, 27(6): 249-252.
- [19] Bini E, Knight D P, Kaplan D L. Mapping domain structures in silks from insects and spiders related to protein assembly [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2004, 335(1): 27-40.
- [20] Rockwood D N, Preda R C, Yücel T, et al. Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin [J]. *Nature Protocols*, 2011, 6(10): 1612.
- [21] Eslah F, Jonoobi M, Faezipour M, et al. Preparation and development of a chemically modified bio-adhesive derived from soybean flour protein [J]. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 2016, 71: 48-54.
- [22] Bhagat V, Becker M L. Degradable adhesives for surgery and tissue engineering [J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(10): 3009-3039.
- [23] 成莹栋. 再生家蚕丝素蛋白结构转变的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2008.
- [24] 朱良均, 胡国梁, 姚菊明, 等. 丝素蛋白在胶凝时的分子结构、结晶性的探讨[J]. 蚕业科学, 1998, 24(4): 226-230.
- [25] Vernengo A J. Adhesive Materials for Biomedical Applications [M]. Rijeka: In Tech, 2016: 100-136.
- [26] Guo J, Wang W, Hu J, et al. Synthesis and characterization of anti-bacterial and anti-fungal citrate-based mussel-inspired bioadhesives [J]. *Biomaterials*, 2016(85): 204-217.
- [27] Mehdizadeh M, Weng H, Gyawali D, et al. Injectable citrate-based mussel-inspired tissue bioadhesives with high wet strength for sutureless wound closure [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(32): 7972-7983.
- [28] Jeon E Y, Hwang B H, Yang Y J, et al. Rapidly light-activated surgical protein glue inspired by mussel adhesion and insect structural crosslinking [J]. *Biomaterials*, 2015(67): 11-19.
- [29] Fan C, Fu J, Zhu W, et al. A mussel-inspired double-crosslinked tissue adhesive intended for internal medical use [J]. *Acta Biomaterialia*, 2016(33): 51-63.
- [30] Burke S A, Ritter-Jones M, Lee B P, et al. Thermal gelation and tissue adhesion of biomimetic hydrogels [J]. *Biomedical Materials*, 2007, 2(4): 203.

(责任编辑:唐志荣)