

摘 要

生物矿化是有机基质在生物体内环境中，从分子水平上精细调控形成具有结构复杂和性能优良生物矿物的过程。基于生物矿化机理发展起来的仿生合成法是在温和条件下，模仿生物体内无机物在有机物调控下的形成，避免了传统合成无机材料所使用的高温高压和强酸强碱等苛刻条件，属于典型的环境友好型合成技术。因此，利用仿生合成技术来制备结构可控的无机材料吸引了人们的广泛兴趣。

研究表明，生物矿化的本质是有机大分子诱导无机晶体的矿化沉淀，通过有机大分子模板自组装诱导无机材料的仿生合成策略是材料学研究的热点。如何设计构造结构和功能近似于生物体的蛋白质分子，模拟体内环境为无机相多尺度的分级组装提供理想的模板是仿生合成无机材料的核心及主要任务。与其它矿化模板相比，基于仿生技术研究开发的多肽分子具有丰富组装驱动力、高催化活性和结构易改造的优点。基于此，本论文设计合成了分子结构简单的星形多肽和两亲性短肽分子，考察两类多肽在不同溶液环境中的自组装情况，并以多肽自组装体作为矿化模板，在不同物理化学条件（如多肽组成、浓度、多肽

/离子类型和外力场等）下介导合成具有特定形貌的二氧化硅材料以及探讨其矿化机理，进而揭示仿生合成中“多肽分子结构一多肽组装体结构一二氧化硅矿化材料形貌”三者之间的关系。主要研究工作如下：

(1)以星形多肽为有机模板介导合成二氧化硅材料

(a)采用液相合成法制备了四种星形多肽共聚物聚乙烯亚胺一聚赖氨酸PEIm-*g*-PLLn，具体包括PEI10-*g*-PLL1800、PEI10-*g*-PLL10000、PEI20-*g*-PLL1800 和PEI20-*g*-PLL10000；

(b)通过对星形多肽PEIm-*g*-PLLn在水溶液中的组装情况进行研究，发现它们能形成纳米球状结构和无规则卷曲二级结构；

(c)以星形多肽PEIm-*g*-PLLn作为有机模板在温和条件下仿生合成二氧化硅材料，并考察了不同类型的无机离子对矿化产物形貌的影响。结果表明，以PEI10-*g*-PLL1800、PEI10-*g*-PLL10000和PEI20-*g*-PLL1800多肽在不同浓度和离子（CO32-、SO42-和PO43-）中均主要介导合成球状的二氧化硅材料；PEI20-*g*-PLL10000多肽CO32-、SO42-和PO43-离子中均主要介导合成纤维状的二氧化硅材料，但能在不同硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例（*δ*）中诱导合成出具有特定形貌的二氧化硅材料：当δ= 3 时，

I

PEI10000-*g*-PLL20能诱导形成表面光滑、尺寸规整的球状二氧化硅材料；当*δ*= 5时，相邻球状颗粒间能发生粘连形成类似链状结构；当*δ*增大到11和18时，PEI10000-*g*-PLL20则分别介导合成出纤维状和六边形的片状二氧化硅材料；

(d)形成具有特殊形貌的二氧化硅是星形多肽、无机离子和硅酸相互作用的结果，这种相互作用体现为：在无机离子的参与下，星形多肽促进硅酸的缩聚反应；而硅酸的缩聚过程也能够通过静电作用力等促进星形多肽形成有序结构。因此，星形多肽PEIm-*g*-PLLn、无机离子和硅酸参与了仿生合成二氧化硅的整个过程，而多肽在矿化过程中发挥着催化和导向的作用。

(2)以两亲性短肽自组装体为有机模板介导合成二氧化硅材料

(a)采用Fmoc–固相合成法制备了九种两亲性短肽XmK，具体包括A3K、A6K、A9K、

V3K、V6K、V9K、I3K、I6K和I9K；

(b)所设计合成的两亲性短肽XmK 在水溶液中能自组装形成不同形貌的纳米结构：

A3K、A6K和A9K分别自组装成片状、管状和蠕虫状的纳米材料，其二级结构由无规则卷曲向β–折叠转变；V3K、V6K和V9K自组装体结构由纤维状向片状转变，而其二级结构均为β–折叠；I3K、I6K和I9K自组装体结构由管状向片状转变，而其二级结构也均为β–折叠；

(c)以两亲性短肽XmK自组装体作为有机模板，在不同物理化学条件下仿生合成出具有特定矿化形貌的二氧化硅材料。其中，A3K、A6K和A9K多肽在温和条件下分别介导合成出球状、片状和棒状二氧化硅，外加电场作用后使AmK多肽均介导合成出纤维状结构二氧化硅材料；V3K、V6K和V9K多肽在温和条件下介导合成出带状和片状二氧化硅，外加电场作用后有利于VmK多肽均介导合成出尺寸更长的带状和纤维状结构二氧化硅材料；I3K、I6K和I9K多肽在温和条件下介导合成出管状和片状二氧化硅，外加电场作用后对I3K多肽的仿生合成影响不大，但有利于I6K和I9K多肽介导合成出形貌均一的棒状二氧化硅材料。因此，通过调节两亲性短肽XmK分子疏水端功能基团的类型和链长，并配合自组装及仿生合成过程中矿化条件的调控，可介导合成出尺寸均一、形貌规整的二氧化硅材料；

(d)两亲性短肽分子XmK介导二氧化硅材料有以下调控因素及矿化规律：I3K多肽由于自组装结构的稳定性，二氧化硅纳米颗粒直接在多肽自组装体表面有序沉积，最终矿化合成出与自组装体形貌类似的二氧化硅材料。而其它两亲性短肽的矿化

II

过程则是先形成小的二氧化硅纳米颗粒，然后以其作为构筑基元，相互相邻的纳米粒子间发生缩合和长大，最终重组装形成比自组装体长度更长、粒径更大的二氧化硅材料。在仿生合成过程中，两亲性短肽自组装体通过有机–无机界面处的分子识别作用在二氧化硅的成核生长并有序地组装形成特殊结构方面发挥了重要作用。并且，虽然两亲性短肽尾部的疏水作用力在其自组装结构的稳定性中发挥着主要作用，但当两亲性多肽的疏水性进一步增强时，会打破原来自组装体系中亲水端和疏水端的平衡，氢键作用减弱，因而多肽自组装结构容易受矿化环境的影响；

(e)本实验通过实现对二氧化硅材料的结构和形貌的精确调控，有利于两亲性短肽自组装体在仿生合成特定形貌的无机材料的应用，并使这一经验性实验向人为可精确调控的方向发展。

本论文的研究成果有利于揭示生物矿化体系中有机大分子的组成结构与其介导无机矿化物及自组装结构之间的复杂关系，能为体外仿生合成特定形貌的无机材料提供了新的思路，对理解和掌握仿生合成的普适性规律也有较高的科学意义。

关键词：生物矿化；仿生合成；星形多肽；两亲性短肽；自组装

III

Abstract

Biomineralization is a process that inorganic crystals are deposited in a well–ordered fashion in the matrix of many living organisms. How to investigate and understand the assembled biomineralization mechanism is significant to fabricate organic–inorganic hybrid materials. Biomimetic synthesis of inorganic materials can overcome the limitations of traditional chemical methods and provide an environmentally friendly paradigm for the fabrication of complex structures. Therefore, exploration and development of a biomimetic synthesis for preparing inorganic materials with controlled structures have aroused intense research interest.

With the investigation on the nature of biomineralization, it has been found that the organic molecules play important roles in directing mineralized deposit of inorganic crystals. These findings demonstrate the potential application of self–assembled organic templates and biomimetic conditions for regulating morphologies of inorganic materials. Thus, how to design and fabricate well–defined template is of great significance for biomimetic synthesis. Accordingly, a series of star-shaped peptides and short amphiphilic peptides have been designed and synthesized. In pure water, these peptide amphiphiles can self–assemble into various nanostructures. Subsequently, the assembled peptides were employed as organic templates for the formation of silica materials. To gain better view into the direction of peptide assembly on the fabrication of silica materials, several chemical/physical influences (i. e., peptide composition, nature of the peptide/anion complex, and external fields), on the resulting silica morphologies were systematically investigated. Based on these results, we proposed the possible model for peptide–based silica preparation. The main contents are listed as follows:

(1) Biomimetic synthesis of silica directed by star–shaped poly(L-lysine)

(A) Four star–shaped copolymers PEIm-*g*-PLLn, including PEI10-*g*-PLL1800, PEI10-*g*-PLL10000, PEI20-*g*-PLL1800, and PEI20-*g*-PLL10000, were designed and synthesized.

(B) The star-shaped copolymers in pure water self-organized into spherical nanoparticles, and their secondary structures predominantly adopted random coil conformation.

IV

Abstract

(C) The star-shaped peptides along with multiple anions were employed as scaffolds to direct the biomimetic synthesis of silica under ambient conditions. It was found that PEI10-*g*-PLL1800, PEI10-*g*-PLL10000, and PEI20-*g*-PLL1800 peptides produced spherical silica particles. However, various silica morphologies were transformed using specific TEOS/lysine residue ratio in PEI10000-*g*-PLL20/anion/silicic acid systems. Individual silica spheres were obtained when*δ*was smaller than 10, whereas fibrilar (*δ*= 11) and hexagonal (*δ*= 18) particles formed whendwas larger than 10.

(D) We confirmed that the introduction of anions is necessary but not sufficient to fabricate well–defined silica materials. The interactions among star–shaped peptide, anion, and silica intermediates all contribute to induce the formation of silica aggregates.

(2) Biomimetic synthesis of silica directed by self–assemblies of short peptide amphiphiles

(A) Nine short peptide amphiphiles XmK, including A3K, A6K, A9K, V3K, V6K, V9K, I3K, I6K, and I9K, were designed and synthesized.

(B) In pure water, variation of peptide compositions could lead to altered self–assembly into nanotubes, lamellar stack nanostructures, and nanospheres. Circular Dichroism (CD) and Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FT–IR) spectroscopy revealed that these peptides adoptβ–sheet and unordered structures.

(C) The short peptide self–assemblies were used as templates to fabricate silica materials, and it was found that peptide self–assemblies tune silica aggregation *via* different mechanisms. Under ambient conditions, A3K, A6K, and A9K peptides could direct spherical, sheet-like, and clubbed silica particels, respectively. VmK peptides could primarily tailor fibrilar silica materials, and ImK peptides directed produced silica nanotubes and sheets. Interestingly, silica with uniform lengths and diameters were formed when additional electric field stimulation was applied to facilitate deposition of silica precursors. Therefore, silica materials with controlled morphologies can be obtained by adjusting biomimetic conditions.

(D) Based on these results, we propose the following model for peptide-based silica preparation using short peptide amphiphiles as templates. For I3K, as the exceptional stability of peptide self-assemblies, silica intermediates tended to deposit directly at the

V

Peptide surface. However, for other short amphiphilic peptides, the large size of silica particles could be formed from re–assembly of twinned crystals. During the early stage of silicification, these short peptide self-assemblies in aqueous solution adjust their corresponding aggregation patterns upon interacting with ions and silicic acid to form small nano–objects. These short/small pieces then gradually re–assemble into larger hybrid silica aggregates, resulting in lowering surface energy of crystal lattice. Obviously, the short peptides containing special amino acid moieties supply both molecular recognition and sites for silica deposition to form an ordered array at the interface.

(E) We believe that our findings will provide important novel insights into the bottom–up fabrication of inorganic materials through specialized and organized molecular self–assemblies.

We have demonstrated simple but efficient routes to fabricate inorganic materials with controlled materials *in vitro*, which may clarify the relationships between the molecular structures and silica morphologies, and further our understanding of peptide-mediated mineralization mechanism.

**Keywords**: biomineralization; Biomimetic synthesis; Star-shaped peptide; Amphiphilic short peptide; Self–assembly

IV

目 录

[摘 要](#_Toc686424613) 1

[Abstract](#_Toc686424614) 3

[Abstract](#_Toc686424615) 3

[目录](#_Toc686424616) 4

[第一章 绪论](#_Toc686424617) 6

[1.1 研究背景和意义](#_Toc686424618) 6

[1.2 Th物矿化](#_Toc686424619) 6

[1.2.1 Th物矿化概述](#_Toc686424620) 6

[1.2.2 Th物矿化的作用原理](#_Toc686424621) 7

[1.2.3 Th物矿化过程](#_Toc686424622) 7

[1.2.4 Th物矿化的研究方向与进展](#_Toc686424623) 7

[1.2.4.1 Th物矿化物的结构与形貌研究](#_Toc686424624) 7

[1.2.4.2 Th物矿化的机理研究](#_Toc686424625) 7

[1.2.4.3 Th物矿化物的应用研究](#_Toc686424626) 8

[1.2.5 二氧化硅的Th物矿化](#_Toc686424627) 8

[1.3 仿Th合成](#_Toc686424628) 8

[1.3.1 仿Th合成概述](#_Toc686424629) 8

[1.3.2 仿Th合成研究进展](#_Toc686424630) 8

[1.3.3 二氧化硅的仿Th合成研究](#_Toc686424631) 9

[1.4 多肽自组装概述和研究现状](#_Toc686424632) 9

[1.4.1 多肽分子自组装](#_Toc686424633) 10

[1.4.2 多肽分子自组装的驱动力](#_Toc686424634) 10

[1.4.2.1 π–π堆积作用](#_Toc686424635) 10

[1.4.2.2 静电作用](#_Toc686424636) 10

[1.4.2.3 氢键作用](#_Toc686424637) 10

[1.4.2.4 疏水作用](#_Toc686424638) 11

[1.4.2.5 范德华力](#_Toc686424639) 11

[1.4.3 基于树枝型聚合物的星形嵌段共聚物](#_Toc686424640) 11

[1.4.4 两亲性多肽分子自组装](#_Toc686424641) 11

[1.4.4.1 两亲性短肽分子的种类](#_Toc686424642) 11

[1.4.4.2 两亲性短肽分子的研究现状](#_Toc686424643) 12

[1.4.5 影响多肽分子自组装的因素](#_Toc686424644) 12

[1.4.5.1 多肽分子氨基酸序列对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424645) 12

[1.4.5.2 pH值对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424646) 12

[1.4.5.3 浓度对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424647) 12

[1.4.5.4 离子强度对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424648) 13

[1.4.5.5 温度对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424649) 13

[1.4.5.6 光照对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424650) 13

[1.4.5.7 时间对多肽分子自组装的影响](#_Toc686424651) 13

[1.5 论文选题依据](#_Toc686424652) 13

[1.6 论文的设计思路和研究内容](#_Toc686424653) 14

[1.6.1 论文的设计思路](#_Toc686424654) 14

[1.6.2 论文的研究内容](#_Toc686424655) 14

[1.7 论文的创新点和技术路线](#_Toc686424656) 14

[1.7.1 论文的创新点](#_Toc686424657) 14

[1.7.2 论文的技术路线](#_Toc686424658) 14

[第二章 星形多肽共聚物介导二氧化硅的仿Th合成](#_Toc686424659) 14

[2.1 前言](#_Toc686424660) 14

[2.2 实验部分](#_Toc686424661) 15

[2.2.1 实验仪器与试剂](#_Toc686424662) 15

[2.2.2 星形多肽共聚物的合成](#_Toc686424663) 18

[2.2.3 实验试剂的制备](#_Toc686424664) 19

[2.2.4 星形多肽共聚物仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424665) 19

[2.3 结果与讨论](#_Toc686424666) 19

[2.3.1 星形多肽共聚物PEIm-](#_Toc686424667)*[g](#_Toc686424667)*[-PLLn的纯度鉴定](#_Toc686424667) 19

[2.3.2 星形多肽共聚物PEIm-](#_Toc686424668)*[g](#_Toc686424668)*[-PLLn的形貌研究](#_Toc686424668) 19

[2.3.3 分子结构对PEIm-](#_Toc686424669)*[g](#_Toc686424669)*[-PLLn仿Th合成二氧化硅材料形貌的影响](#_Toc686424669) 20

[2.3.4 浓度对PEI10000-](#_Toc686424670)*[g](#_Toc686424670)*[-PLL20多肽仿Th合成二氧化硅材料形貌的影响](#_Toc686424670) 20

[2.3.5 离子类型对PEI10000-g-PLL20多肽仿Th合成二氧化硅材料形貌的影响](#_Toc686424671) 20

[2.3.6 离子类型对PEI10000-](#_Toc686424672)*[g](#_Toc686424672)*[-PLL20组装的影响](#_Toc686424672) 21

[2.3.4 星形多肽共聚物PEIm-](#_Toc686424673)*[g](#_Toc686424673)*[-PLLn仿Th合成二氧化硅复合材料的成分分析](#_Toc686424673) 21

[2.4 星形多肽共聚物](#_Toc686424674)**[PEIm-](#_Toc686424674)*[g](#_Toc686424674)*[-PLLn](#_Toc686424674)**[仿Th合成二氧化硅材料的机理讨论](#_Toc686424674) 21

[2.5 本章小结](#_Toc686424675) 21

[第三章 两亲性短肽的设计、合成和表征](#_Toc686424676) 21

[3.1 前言](#_Toc686424677) 22

[3.2 实验部分](#_Toc686424678) 22

[3.2.1 实验仪器与试剂](#_Toc686424679) 22

[3.2.2 两亲性短肽的合成](#_Toc686424680) 24

[3.2.3 多肽产物的表征](#_Toc686424681) 25

[3.2.3.1 高效液相色谱分析](#_Toc686424682) 25

[3.2.3.2 质谱分析](#_Toc686424683) 25

[3.3 结果与讨论](#_Toc686424684) 25

[3.3.1 多肽分子结构的设计](#_Toc686424685) 25

[3.3.2 高效液相色谱结果分析](#_Toc686424686) 25

[3.3.3 质谱结果分析](#_Toc686424687) 26

[3.4 本章小结](#_Toc686424688) 27

[第四章 两亲性短肽的自组装研究](#_Toc686424689) 27

[4.1 前言](#_Toc686424690) 27

[4.2 实验部分](#_Toc686424691) 27

[4.2.1 试剂与原料](#_Toc686424692) 27

[4.2.2 多肽自组装体溶液的配制](#_Toc686424693) 27

[4.2.3 原子力显微镜（AFM）样品表征](#_Toc686424694) 27

[4.2.4 圆二色光谱（CD）样品表征](#_Toc686424695) 28

[4.2.5 傅里叶变换红外光谱（FT–IR）样品表征](#_Toc686424696) 28

[4.3 结果与讨论](#_Toc686424697) 28

[4.3.1 AmK多肽自组装体形貌和二级结构的测定](#_Toc686424698) 28

[4.3.2 VmK多肽自组装体形貌和二级结构的测定](#_Toc686424699) 29

[4.3.3 ImK多肽自组装体形貌和二级结构的测定](#_Toc686424700) 30

[4.4 本章小结](#_Toc686424701) 30

[第五章 离子对两亲性短肽自组装的影响](#_Toc686424702) 31

[5.1 前言](#_Toc686424703) 31

[5.2 实验部分](#_Toc686424704) 31

[5.2.1 实验仪器与试剂](#_Toc686424705) 31

[5.2.2 多肽自组装体溶液的配制](#_Toc686424706) 32

[5.2.3 原子力显微镜（AFM）样品表征](#_Toc686424707) 32

[5.2.4 圆二色光谱（CD）样品表征](#_Toc686424708) 32

[5.3 结果与讨论](#_Toc686424709) 32

[5.3.1 离子类型对AmK形成纳米结构的影响](#_Toc686424710) 32

[5.3.2 离子类型对VmK形成纳米结构的影响](#_Toc686424711) 33

[5.3.3 离子类型对ImK形成纳米结构的影响](#_Toc686424712) 34

[5.4 本章小结](#_Toc686424713) 35

[第六章 两亲性短肽介导合成形貌可控的二氧化硅](#_Toc686424714) 35

[6.1 前言](#_Toc686424715) 35

[6.2 实验部分](#_Toc686424716) 35

[6.2.1 实验仪器与试剂](#_Toc686424717) 35

[6.2.2 实验方法](#_Toc686424718) 37

[6.2.2.1 多肽自组装溶液的制备](#_Toc686424719) 37

[6.2.2.2 新鲜硅酸溶液的配制](#_Toc686424720) 37

[6.2.2.3 两亲性短肽在温和条件下介导二氧化硅的仿Th合成](#_Toc686424721) 37

[6.2.2.4 两亲性短肽在电场条件下介导二氧化硅的仿Th合成](#_Toc686424722) 37

[6.3 实验结果与讨论](#_Toc686424723) 37

[6.3.1 两亲性短肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅的研究](#_Toc686424724) 37

[6.3.1.1 AmK多肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424725) 37

[6.3.1.2 VmK多肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424726) 38

[6.3.1.3 ImK多肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424727) 38

[6.3.2 两亲性短肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅的研究](#_Toc686424728) 39

[6.3.2.1 AmK多肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424729) 39

[6.3.2.2 VmK多肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424730) 40

[6.3.2.3 ImK多肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅材料](#_Toc686424731) 40

[6.3.4 两亲性短肽仿Th合成二氧化硅复合材料的红外光谱分析](#_Toc686424732) 40

[6.3.5 两亲性短肽仿Th合成二氧化硅复合材料的热失重分析](#_Toc686424733) 41

**[6.4](#_Toc686424734)****[XmK](#_Toc686424734)**[系列多肽自组装体仿生合成二氧化硅的机理讨论](#_Toc686424734) 41

[6.4.1 AmK多肽仿Th合成二氧化硅材料机理探讨](#_Toc686424735) 41

[6.4.2 VmK多肽仿Th合成二氧化硅材料机理探讨](#_Toc686424736) 41

[6.4.3 ImK多肽仿Th合成二氧化硅材料机理探讨](#_Toc686424737) 41

[6.5 本章小结](#_Toc686424738) 42

[第七章 结论](#_Toc686424739) 42

[攻读博士学位期间的学术成果](#_Toc686424740) 42

[参考文献](#_Toc686424741) 43

# 第一章 绪论

## 1.1 研究背景和意义

合成具有特定形貌、结构、尺寸和晶形的有机–无机复合材料是材料科学领域的重要研究方向。自然界生物体经过长期进化形成了的生物矿化材料（例如坚韧的蜘蛛丝、坚硬的贝壳、锋利的牙齿、高强度的骨头等），在整个生物矿化过程都会受到生命过程的精确调控，这使得它们在结构与性能上跟普通的矿物质有较大差别[[1-3]](#_bookmark109)。基于生物矿化原理发展起来的仿生合成技术可以克服传统合成无机材料所要求的高温高压、价格昂贵和极端pH值等苛刻条件，属于典型低能耗绿色合成技术[[4-6]](#_bookmark112)。仿生合成出的无机材料以其优异的性能、完美的结构，能够满足人们对新型材料的高标准和高要求。借助生物矿化的原理，人们希望通过利用有机模板的调控作用、环境友好的路线、生物模拟方法合成出性能优异的超级结构，并实现对无机材料的结构与形貌进行有效调控[[7-10]](#_bookmark114)。

研究表明，生物矿化的重要特征是采用自组装有机聚集体或超分子模板制备具有高度有序的、等级结构的和生物相容性良好的有机–无机复合材料。受生物矿化现象的启发，通过设计合成适当的有机模板来模拟有机基质在仿生合成中的应用，这既能够使晶体的生长更接近生物体的生物矿化环境，有利于深入了解生物矿化的本质，为探讨生物矿化机理设计出合适的体系；并且能够通过加入不同控制条件的和操控手段，获取具有特殊结构与形貌的无机矿化材料，可以实现无机材料的可控合成提供切实有效的实验方法。人们通过仿生合成出从介微观尺度到宏观尺度的无机功能材料，并研究这些材料所具有的独特结构与性能，这已成为材料物理、材料化学及生物材料学等学科交叉的研究热点[[11,](#_bookmark116) [12]](#_bookmark117)。

## 1.2 Th物矿化

### 1.2.1 Th物矿化概述

生物矿化（Biomineralization）是自然界中生物体内广泛存在的一种现象，是在生命体内相应细胞介导控制和一定物理化学条件下，在有机大分子基质上选择性吸附无机物，实现分子水平上对无机物从成核到结晶过程的调控并在基质上形成具有特殊多级结构、高度有序的固相矿物过程[[13]](#_bookmark118)。

生物矿化通常采用自然界简单常见的组分，实现对无机矿物结晶过程的精确控制。与一般矿化不同，生物矿化存在有机生物大分子基质（包括不溶性有机基质和可溶性有机基质）的参与，通过有机大分子与无机离子在界面的相互作用，并且所形成的无机晶体的晶体形貌、尺寸、取向和晶型都受到结晶时局部条件的的精确调控，形成特殊的组装方式及多级结构，达到控制晶体习性、多晶类型和晶体形貌的目的（如图1-1）。



图1-1 自然界存在的一些矿物的形貌图

Fig. 1-1 Images of some biomineralized morphologies that occur in nature[[7-10]](#_bookmark114).

按照生物矿化与生命物质间的关系，生物矿化过程可以分为生物诱导矿化（Biologically induced mineralization）及生物控制矿化（Biologically controlled mineralization）[[14]](#_bookmark119)。生物诱导矿化是生物的生命活动跟环境相互作用的矿化过程，此类矿化作用的控制程度比较低，既无特定的空间限制，也无专门的细胞组织、生物大分子介导，形成的矿物类型很大程度是由环境决定，同一种生物在不同环境中可形成不同的矿物，而且所形成的矿化物的晶体

特征与无机化学沉淀矿物很类似，晶体任意取向，缺乏独特形貌。这种矿化类型主要存在于真菌、原核生物、藻类和原生动物中，在后生动物中却很少发现。生物控制矿化则是生物体不受外界环境影响，通过生理调节控制无机矿物沉积的过程。此类矿化作用通常发生在生物体的特定位置，有机大分子严格控制着矿物结晶的取向、排列、内部结构和外部形貌，所形成的矿化产物含有机分子较多，且其物理化学性质与无机矿物具有明显差异[[15](#_bookmark120)]。生物控制矿化在生物中占有统治地位，一般所说的生物矿化通常是指生物控制矿化。当然，这两种生物矿化作用的界限不是绝对的，二者可能在一种生物的不同部位或者在同一生物的同一部位发生。

### 1.2.2 Th物矿化的作用原理

生物体内的有机大分子（如蛋白、双螺旋、DNA和基因等）在体内微环境中能够介导无机离子沉积，并形成外貌精美、结构独特的生物无机矿物，如硅藻细胞壁、贝壳、牙齿和骨骼等[[16-18]](#_bookmark121)。生物矿化和一般矿化都存在着晶体的成核与生长、晶面延伸等过程，但在生物矿化过程中，生物有机大分子在界面处通过调控与无机离子的作用，在分子水平上调控生物的组装方式和多级结构，从而使生物矿化过程有其独特的规律。随着研究学者们对生物矿化作用原理研究的不断深入，发现影响生物矿化的因素有很多。生物矿化的过程除了包含影响晶体生长的因素外，还有很多很复杂的生物、化学过程（如结构匹配、环境因素、静电效应和空间位阻等）。生物矿化过程具有高度的多样性和复杂性主要体现在，不同生物体对生物矿化过程的控制不一致，并且同种生物体的不同部位对生物矿化过程的控制也不一致。另外，生物体在调控无机矿化物的成核、生长、结构与形貌过程是动态的。生物矿化这些过程的特性使得其机理研究有一定的困难，所以目前各种生物矿化的原理尚未能在分子水平上系统明确地总结和解释[[19]](#_bookmark122)。

### 1.2.3 Th物矿化过程

生物矿物的形成通常发生在生物体内的特定矿化空间，如磷脂囊泡和膜界微室中。这些限定的空间可以为晶体的成核提供活性中心，并且可以控制晶体的尺寸和形貌。生物矿化主要控制晶体的成核与长大过程，而这两个过程主要依靠系统中界面（矿物基体和矿物环境）的性质与介质离子的过饱和度。晶体的生长通常可总结为四个步骤，包括“溶质的溶解

—生长基元的生成—生长基元在界面上聚合—晶体的生成“，晶体在矿化过程的形成具体

可分为以下四个阶段[[20]](#_bookmark123)：

##### （1) 生物有机大分子的预组织（Supramolecular preorganization）

生物有机大分子进行预组装构建成有序的反应环境，形成具有一定形貌和强度的矿化模板，为无机矿物的成核构造有序的反应位置，这是生物矿化的前提条件。有机大分子与无机离子在分子识别前，将识别无机离子的环境组织得愈好，其识别效果愈佳，所形成的无机矿物也愈稳定。

##### （2) 界面分子识别（Interfacial molecular organization）

Mann最早根据酶与底物的作用特点提出了著名的分子识别概念、锁与钥匙原理[[21]](#_bookmark124)。通过在有机-无机界面上的分子相互识别，有机大分子基质调控无机矿物的成核部位，并控制无机离子在界面处的成核。分子识别能够理解为底物和受体的选择性结合，并具有专一性功能的过程，其中预组织与互补性是决定分子识别过程的两个重要因素。对于生物矿化，无机离子在生物有机大分子上寻找成核生长位点并与之结合，这将为下一阶段的有序组装确定好框架。分子识别一般表现为：有机基质在界面处通过晶格几何特征、立体化学因素、静电作用、极性、基质形貌、空间对称性和氢键相互作用等方面和影响无机矿物成核的结构、部位以及组成的选择、形貌、取向和晶型等。此外，界面分子识别的过程通常存在三个作用：一是生物大分子与无机矿物晶格的匹配。当晶体某一晶面的晶格参数与生物大分子的表面结构相匹配时，就能降低晶体成核时的活化能，诱导晶体在该晶面生长，从而形成尺寸均一、取向一致的矿物。当晶体的某晶面选择性地吸附生物大分子后，会降低该晶面的生长速率，甚至会停止晶体生长。二是空间立体化学的结构互补与分子水平上的空间定位。立体化学结构互补是生物有机大分子的头基与晶格中的无机离子在有机-无机界面处存在结构上的互补，进而相互识别和诱导特定的晶体成核。分子水平上的空间定位是生物有机大分子可以提供一个有效的晶体定位成核生长中心，无机晶体在空间上的扩展会被该定位中心限制，因此晶体的结构、尺寸和形貌会受到控制。三是静电引力。静电引力在界面的电荷富集与形成双电层方面具有重要作用。

##### （3) 生长调制（Vectorial regulation）

有机大分子基质在控制晶体生长的同时，也调控晶体初步组装成亚单元结构。无机相在此阶段通过晶体的生长和终止来进行组装得到了亚单元，其结构、形态、尺寸和取向会

受到生物有机大分子组装体的调控。因为生物矿化过程中有机基质是动态的，所以有机基质分子组装体会在空间和时间上调节晶体的成核生长，此过程是生物矿化物具有独特的多级结构和特定形貌的前提[[22]](#_bookmark125)。

##### （4) 细胞水平调控与加工（Cellular processing）

细胞水平上对天然生物矿化材料的调控与加工，是其与人工合成材料差别的主要原因，而且是细胞活动中复杂超精细结构的修饰阶段，也是仿生合成的高级阶段[[23](#_bookmark126)]。在此阶段，已经组装好的亚单元矿物质会在组织细胞中逐步组装形成更高级、更加有序的多层次结构的无机矿化物。经过细胞水平上的调控和加工后，无机矿物表现出结构精美、性能优良、形貌奇特的特征。

总之，生物矿化过程是一种有机–无机间和固–液间的物理化学过程。该过程受到热力学因素（包括温度、浓度、压力和pH值），动力学因素（包括相变、核化、沉淀）和生物学因素（空间、构架、化学环境）的控制。生物矿化四个阶段的提出，不仅有利于人们对生物矿化过程的研究建立明确清晰的思路，而且也可以为材料化学、仿生学的研究进展提供新方法[[24]](#_bookmark127)。

### 1.2.4 Th物矿化的研究方向与进展

在以生物无机矿化物为研究对象的生物无机化学领域中，生物矿化的研究方向主要包括三个方面：生物矿化物的结构与形貌研究，生物矿化机理的研究，仿生材料的设计和合成。

#### 1.2.4.1 Th物矿化物的结构与形貌研究

对生物矿化物的结构与形貌的研究，既要研究矿物的宏观与亚微观结构，并且要在纳米水平上研究其结构组装。随着近年分析技术的快速发展，各种专门的先进仪器，包括核磁共振、透射电镜、扫描电镜、红外–拉曼光谱仪等，不但已经研究了绝大多数种类的主要矿化物结构与成分，并且将生物矿化物的研究深入到分子生物学、生物无机化学、细胞生物学甚至基因层次。目前研究得最透彻的矿物主要有贝壳、骨骼和牙齿[[25-28]](#_bookmark128)。研究表明，非脊椎动物（软体动物）的外壳主要由方解石和文石构成，骨骼和牙的主要成分却是羟基磷灰石。目前，人们对生物矿化的研究已经不再局限于矿物本身，更多的是从纳米水平上

对生物矿化的本质进行更深层次的研究。

#### 1.2.4.2 Th物矿化的机理研究

在生物体内，生物矿化是一个包括成核、生长与相变等阶段，并受到多种因素影响的复杂生化过程。它不但受到细胞矿化位置、组成、介质的酸度、氧化还原性质的影响，并且受到了各种生物学因素与基因的控制。因此，人们对生物矿化机制的研究变得十分艰巨和复杂，特别是对生物矿化的详细过程及其机制的报道还非常有限，还没有形成能得到研究学者们普遍认可的理论。

尽管对生物矿化的研究存在复杂性和困难性，但随着近年来科学技术的发展，对生物矿化的机理研究还是取得了可喜的进步。其中一个重要进展就是，人们了解到无机晶体在生物矿化过程中会受到生物有机大分子的调控，并且生物有机大分子在有机–无机界面上的分子识别时会对晶体的诱导成核、生长、修饰和微结构的有序组装成特定的结构方面发挥着重要的角色[[3,](#_bookmark111) [29-31]](#_bookmark130). Qi等[[32]](#_bookmark133)采用表面功能化的聚合物乳胶粒子组成的胶体晶体作为有机模板，合成了具有三维有序纳米孔洞结构的碳酸钙晶体。该制备方法模拟了生物体内由无定形到方解石型碳酸钙晶体的转化过程，这为三维有序纳米结构的无机材料的可控合成提供了可行的仿生合成途径。Cui等[[33]](#_bookmark134)通过分析牙本质基质蛋白的功能域，设计合成了一种具有很强调控钙磷盐矿化能力的多肽E8DS，同时引入胶原蛋白仿生矿化体系，共同调控磷酸钙晶体的矿化。研究发现，多肽的加入有助于胶原纤维的分子组装，增加了形核位点，促进了磷酸钙在胶原纤维表面矿化，使胶原纤维的矿化程度明显提高。Iijima等[[34,](#_bookmark135) [35]](#_bookmark136)利用阳离子选择性透过膜分隔钙离子和磷酸根离子构建了体外矿化模型，使Ca2+只能通过阳离子膜单向渗透进入含有PO43-及其它相关离子的溶液中，从而在阳离子膜的一侧形成钙离子流，模拟生物矿化过程中Ca2+的单向转运过程，通过在有限反应空间加入PO4的无机/有机因素，体外模拟生物矿化过程，从而对生物矿化的机制及影响因素进行了研究。

3-

#### 1.2.4.3 Th物矿化物的应用研究

通过仿生合成技术制备得到的无机材料（如纳米多孔材料、薄膜和微粒等）具有特殊的物理化学功能、良好的生物相容性，已经在药物载体、催化、骨头和牙齿修复等领域有广泛的应用前景（图1-2）[[36-39]](#_bookmark137)。



图1-2 仿生合成的二氧化硅材料在装载抗肿痛蛋白方面的应用

Fig. 1-2 Application of bioinspired [silica](http://www.chemspider.com/22683) particles in encapsulation of anticancer protein[[36]](#_bookmark137).

然而，由于生物矿化系统的复杂性，难以实时、原位进行跟踪研究生物矿化整个过程，国内外目前多采用各种模型对其进行基础性的理论研究以弄清楚相应的生物矿化分子机理及控制规律。不同的体外模拟体系，包括DNA、蛋白质、多肽、细菌等模板，囊泡、

LB膜、单分子膜、微乳、胶束、反胶束和自组装膜等凝胶体系与有序分子膜体系，被广泛应用进行模拟生物矿化中的有机基质[[40-46]](#_bookmark138)。目前，很多重要的工作还只是停留在对现象的描述和客观现象的总结，并提出了很多假设性的推测理论，还缺乏对生物矿化过程观察的系统科学性的数据。

### 1.2.5 二氧化硅的Th物矿化

在生物长期进化中，自然界已经给我们呈现出各种各样的独特无机结构，每一物种合成出了具有物种特色的生物无机矿化物，并且这些生物矿化过程是生物体从基因到蛋白再到物理化学分子水平严格控制的。生物硅化是普遍存在的生物矿化类型之一，硅元素普遍存在于生物体中，单细胞微生物和高等动植物都需要硅元素来支撑和提供韧性。硅藻、海

绵等生物体能够利用自身中的某些蛋白质和有机大分子在水相、近中性和室温等温和环境下生成具有生物相容性好、形态结构精确可控的生物二氧化硅，这种在生物体内所生成的独特结构是人工条件下难以模拟的，从而引起了人们的广泛关注。作为自然界最原始的原生生物之一，硅藻种类繁多、数量巨大，其细胞壁上含有大量的硅质，且存在着大量形态各异、结构精美的气孔[[7,](#_bookmark114) [8,](#_bookmark115) [47]](#_bookmark139)。这种多孔的坚固材料具有非常优异的性能，包括阻燃、净化、防水和隔热隔音等功能，不仅可以有效地保护了细胞，也不影响细胞内外的物质交流。

生存在100万年前的海绵，是现有最古老的使用二氧化硅作为其骨架的后生动物，其中，Hexactinellida和Demospongiae这两种海绵具有骨针状结构。随着物种的进化，生活在海洋中的海绵体内出现了结构不同的二氧化硅骨架结构。并且，通过对硅藻、海绵和其他高等植物的细胞壁分析，发现其生物体内所合成的二氧化硅均为无定形，而未发现二氧化硅晶体的形成。Demosponge这种海绵的骨针结构已成为研究二氧化硅骨针形成的一种模型[[48]](#_bookmark140)。

植物中硅的存在是因为植物能从土壤中吸收硅（主要以硅酸形式）并且在植物体内进行聚合[[49,](#_bookmark141) [50]](#_bookmark142)。许多植物，包括水z稻hi、ku高q羊u茅an、201麦50及80结7缕草等，其芒尖与叶片等含有不同

的二氧化硅纳米结构，如片层状、纤维状、球状和柱状结构。二氧化硅能为植物提供一定的保护，增加植物的抗疾病、抗干旱能力，防止真菌的侵染及其它致病的生物体进入表层细胞[[51]](#_bookmark143)。高等植物体内二氧化硅的沉积主要发生在细胞间隙、细胞壁和导管内，通过对细胞间隙的二氧化硅纳米结构分析表明，其为无定形的二氧化硅。

利用模拟生物体矿化的方法仿生合成二氧化硅复合材料的研究，对于无机矿物材料的仿生制备具有相当重要的应用价值和指导作用。因此，如何深入研究和利用各种生物矿化的原理，并得到所需的结构精细的无机纳米材料，是今后仿生材料学研究的重点。

## 1.3 仿Th合成

### 1.3.1 仿Th合成概述

种类繁多的生物界在经历45亿年的自然选择与进化已达到相当完美的水平，形成了优良性能且具有结构精妙的天然生物矿化材料。模拟大自然中生物体合成性能优异的无机

–有机复合材料，已成为当前国际材料科学领域的前沿课题。由于自然界生物矿化系统是

一个多种生物大分子共同参与调控的复杂体系，因此材料学家们希望引进仿生的理念，构建简单的模型体系来模拟复杂的生物矿化过程，在温和条件下使用生物有机大分子作为模板精巧调控无机离子的成核与生长，以期理解其复杂的矿化机理和阐释生物体结构与功能的关系，从而合成出性能优良、结构独特的仿生材料[[52-57]](#_bookmark144)。从材料学的角度，仿生合成

（Biomimetic synthesis）是通过模仿生物体结构、生化过程和生化功能的技术来制备结构精美、性能优良的有机-无机复合材料，比如合成分级结构、硬度大的类牙齿材料，制备强度高、生物相容性好、韧性好的类人工骨材料，以及合成类似硅藻细胞壁的多孔二氧化硅材料等等。仿生方法已成为合成药物载体、催化剂、医用材料和性能优良的复合材料及化学传感器等最有效的手段。

仿生合成的研究工作主要包括两个方面：一是，在体外选用天然有机大分子诱导无机矿物的合成，并探索生物组织的功能；二是，选择多肽、蛋白、病毒和DNA等生物大分子替代生物矿物中天然有机大分子进行生物矿化，从而研究生物大分子在生物矿化过程中的作用，并为仿生合成类似的有机–无机纳米复合材料寻找替代物。需要注意的是，仿生合成并非简单地模拟自然界生物体的矿化，更重要的是要了解生物体复杂的结构和功能的关系和基本原理，包括等级结构z、hi自k修u q复u和an自2组01装50等80过7程的机理。因此，我们要从自然界获得材料合成的启发，突破传统观念，并制备出具有实用价值和特殊功能的矿化材料。

### 1.3.2 仿Th合成研究进展

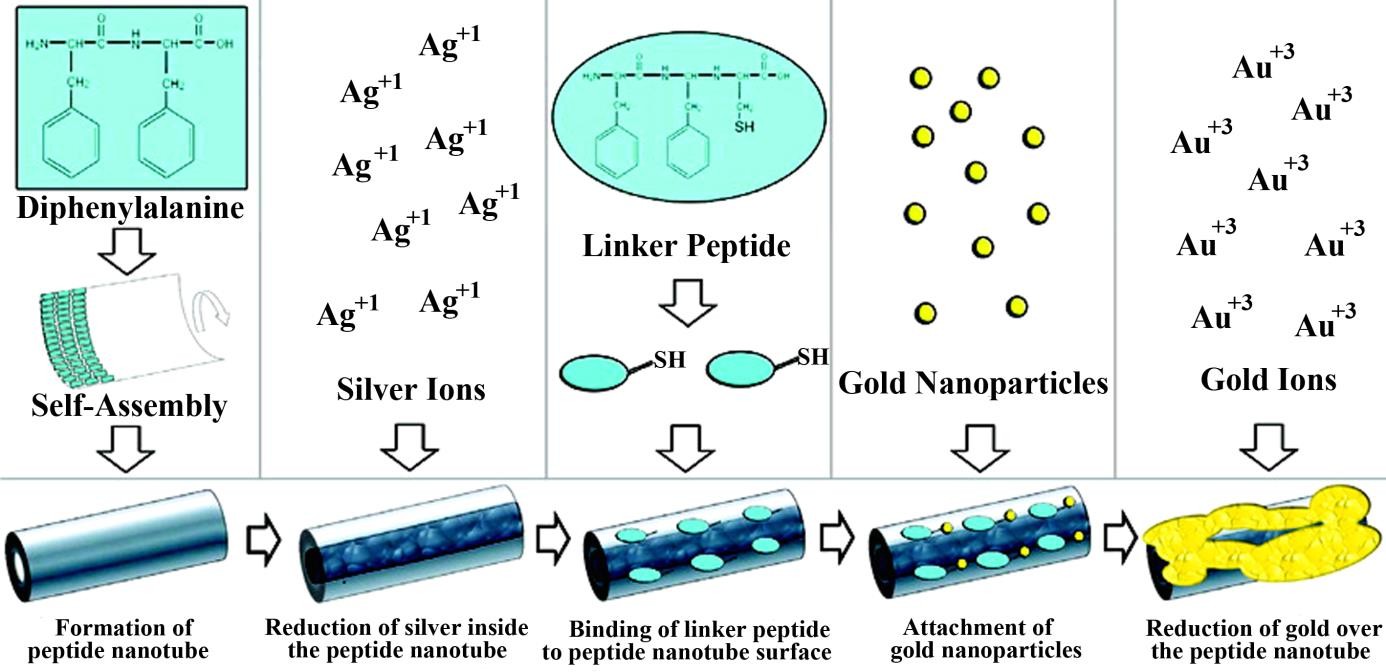
近年来，生物矿化研究的一个重要进展是明确了有机大分子对无机矿物的调控作用[[2,](#_bookmark110)

[58]](#_bookmark147). 这些有机基质在某些特定的环境条件下，能够通过自组装来调节控制无机晶体的尺寸、形貌、结构等方面的性能[[22,](#_bookmark125) [59]](#_bookmark148)。利用有机模板来仿生介导合成无机材料正是基于这个原理产生的新策略[[60]](#_bookmark149)。仿生物矿化材料的设计与合成是生物无机化学领域非常重要的一个研究方向，它采用生物大分子作为有机模板来控制无机离子的成核生长与组装过程，因而可以为制备新型功能与结构的材料提供了新的方法和途径，有着良好的应用价值。

DNA是第一个纳米级生物大分子作为生物矿化模板用于合成连接电极间的导电银纳米线[[61]](#_bookmark150)。之后，蛋白、病毒与多肽等各种生物活性分子被作为有机模板来仿生合成结构新颖的纳米器件与生物材料[[62,](#_bookmark151) [63]](#_bookmark152)。

Jiang等[[64-66]](#_bookmark153)通过对生物表面特殊浸润性的研究基础和对生物表面水收集特性的探索，

可以从微纳米水平上揭示出蜘蛛丝集水“多协同效应”机理，并设计出人造蜘蛛丝，探索了小尺寸液滴的方向性驱动。该课题组的研究启发了科学家们促进快速而有效的反应，并设计出智能的催化材料和纤维网状材料。Chen等[[28,](#_bookmark129) [67]](#_bookmark154)利用酸蚀的牙釉质在HEDTA溶液中浸泡处理后，在体外的温和环境下进行生物矿化，所控制合成的纳米棒状羟基磷灰石在化学组成、晶体尺寸、微观结构及纳米性能上都与天然牙釉质非常类似，从而实现牙釉质缺损后的非细胞组织再生。他们通过研究牙釉质正常及病理状态下生物矿化机制，理解蛋白质对牙釉质矿物晶体的成核和生长调控，揭示龋病、氟牙症的病因机制以磷酸腐蚀釉质。



zhi ku quan 20150807

在不同类别的生物大分子中，多肽因为生物相容性、生物降解性和分子识别特性良好，且组装体的结构形态明确，从而引起了材料学家们的极大关注。Gazit等[[68]](#_bookmark155)发现苯丙氨酸二肽（FF）是识别Alzheimer淀粉状沉淀疾病的多肽成纤维的主要基序，并利用此芳香二肽自组装形成的纳米管为模板合成出Ag纳米导线。后来，该研究小组以这种管作为模板，将FFC三肽超分子共组装在FF二肽纳米管表面作为Au纳米粒子的连接肽，进一步构建了Au、Ag同轴的双金属纳米管（如图1-3所示）[[69]](#_bookmark156)。

图1-3 以自组装多肽纳米管作为模板制备双金属纳米管

Fig. 1-3 Model for fabricating a coaxial nanowire using self-assembled peptide nanotube as template[[69]](#_bookmark156).

Stupp等[[70]](#_bookmark157)设计合成了亲水端为磷酸化丝氨酸、疏水端为十六烷基链的两亲性多肽分子。通过调控体系的pH值，该多肽能在纯水中自组装成多肽纳米线，并且该纳米线可以通过吸引与组织钙离子来促进羟基磷灰石的生物矿化，该研究结果在体外以多肽纳米线材

料作为人工仿制骨骼的支架开辟了很好的思路。此外，该课题组还将这类两亲性多肽的自组装体线作为矿化模板，诱导和控制硫化镉和二氧化硅等无机矿物的合成[[71]](#_bookmark158)。Kirkham 等

[[72]](#_bookmark159)以固相合成法制备了β–折叠多肽P11–4，并将寡肽的单体溶胶注射在牙齿表面或者较浅

的龋洞内，再通过改变酸度和离子强度来调控羟基磷灰石的矿化，从而成功诱导了羟基磷灰石晶体的形成。

需要说明的是，除有关纳米颗粒的仿生矿化合成外，模拟自然生物矿化材料的仿生合成结构性能的研究仍处于初步探索阶段。然而，随着科学家们对生物矿化机制的深入研究，借鉴自然界生物体矿化的基本原理、以生物大分子作为有机模板来可控合成无机纳米材料，并对其尺寸、结构和形貌等进行精确调控的研究正日益成为仿生材料化学的一个热门课题。

### 1.3.3 二氧化硅的仿Th合成研究

生物矿化的重要特征是生物体可以利用生物大分子或自组装有机聚集体模板来制备具有高度有序、精细结构的有机–无机纳米复合材料。这有利于指导人们制备具有复杂形貌的、功能多样的无机材料，相关研究已成为材料化学研究领域热门方向之一。而传统化学合成二氧化硅的方法要求在高压高温或酸碱催化剂等苛刻条件下进行的，因此，在温和条件下，以模拟天然生物大分子或人工合成的有机大分子为矿化模板，通过仿生矿化制备各种结构和形貌新颖的二氧化硅及其复合材料，在有机分子的包覆、纳米材料的合成和药物载体等领域都具有良好的应用价值。

研究发现，一些物质，包括基因、蛋白和其它一些的有机物，能够通过分子间作用力

（如氢键、范德华力及离子作用等）作用组装形成具有特定形貌的聚集体，这些结构已经在无机材料、生物材料和纳米材料等研究领域中得到了广泛的验证。研究学者们可以利用这些生物大分子作为有机模板来合成性能优良、特定结构的二氧化硅材料，而且可以通过调节模板的形态来制备不同形貌的二氧化硅材料，这对于人们更好的研究二氧化硅的矿化机理、性能与结构之间的关系具有深远意义。随着对生物矿化研究的不断深入，研究学者们发现可作为生物矿化模板的种类也越来越多，通常将它们分为硬模板（包括天然模板和人工合成模板）和软模板（包括生物分子，高分子和有机小分子等）两大类。其中，以生物分子（如多糖、DNA、蛋白质和多肽等）作为模板应用于二氧化硅的仿生合成备受到关注（如图1-4）[[73]](#_bookmark160)。



图1-4 体外仿生合成二氧化硅材料的部分生物大分子模板

Fig. 1-4 Selected examples of the biological, bioderived, bioinspired and synthetic additives used in silica formation *in vitro*[[73]](#_bookmark160).

Shchipunov等[[74]](#_bookmark161)运用各种多糖大分子为模板，利用溶胶–凝胶法诱导合成了二氧化硅。他们发现多糖分子结构中的羟基与硅醇间的氢键或共价键作为二氧化硅的生长提供“晶核”作用。

DNA模板由于具有热力学上的稳定性、机械刚性、严密和完善的分子识别能力，因此在组装过程中具有很强的选择性。通过调节DNA的长度、形状与序列，可以合成出不同形貌与结构的二氧化硅纳米功能材料。网状二氧化硅属于阴离子材料，但DNA分子属于阴离子聚合物，因此必须将阴离子DNA转化为阳离子DNA才能作为模板介导二氧化硅的生成。研究学者们通过设计两亲性的DNA分子，不仅使其可以利用静电作用力吸附阴离子二氧化硅颗粒的特性，并且能够增加它的溶解性。Numata等[[75]](#_bookmark162)合成了一端为氨基、一端为胍基的“Y”形DNA分子，以其作为硅源和磷酸基团的桥梁，最终矿化制备得到环状和棒状的二氧化硅材料。

与蛋白质相比，多肽分子结构更为简单，可通过蛋白表达或化学合成的手段来合成，

其性质也能够通过加入一些特殊侧链或非天然氨基酸而改变，且兼具蛋白的特异性功能，因此在种类繁多的生物活性分子中，以多肽分子作为有机模板的矿化体系，引起了材料学家们广泛兴趣。多肽相对其它人工合成的有机分子模板存在四个优势：一是，多肽分子全部由氨基酸残基组成，与细胞亲和性好，且细胞毒性小，因而有良好的生物相容性和体内易降解吸收代谢特性；二是，多肽具有丰富且稳定的组装驱动力（如π–π堆砌作用、疏水作用、氢键作用和静电作用等），有利于获得更加稳定和不同形貌的自组装材料；三是，多肽具有高催化活性，能在温和条件下高效率地进行矿化；四是，多肽分子结构容易改造，其分子大小可在设计时，根据需要进行调节及分子末端容易接上各种功能基团，特别是成熟的固相合成方法可以简单快速地合成短肽，因此我们能通过调整模板的形态和结构来准确调控所合成的纳米材料的形态和结构。多肽的特性为自组装形成某些功能性和生物相容性的材料提供了一种全新的思路，也成为二氧化硅复合材料的理想构筑单元。

Kroger 等[[76]](#_bookmark163)首先发现了从硅藻中提取硅蛋白（Silaffins）可以迅速诱导硅矿化。天然

Silaffins经氢氟酸溶解后可纯化出了一些与细胞壁中二氧化硅结合紧密的低分子量多肽片断，并且测序后证明这些肽链中含有大量赖氨酸残基。这些多肽能够在温和条件下催化硅酸溶液形成二氧化硅，而且其改性部分能调控所形成二氧化硅的形貌。Patwardhan等[[77,](#_bookmark164) [78]](#_bookmark165)利用单独的氨基酸分子（聚–赖氨酸、聚–组氨酸和聚–精氨酸等）为有机模板，在水溶液中制备无定形二氧化硅，这些多肽分子结构的共同点是侧链都存在可催化硅酸缩聚反应的氨基，因而能介导二氧化硅的生成。Sumper等[[79]](#_bookmark166)通过体外硅化实验发现，以长链聚胺诱导二氧化硅的沉淀需要磷酸盐的参与，而且矿化生成的二氧化硅纳米球的尺寸有重要影响。

Tomczak等[[80]](#_bookmark167)在聚赖氨酸合成二氧化硅材料片状六边形时发现多肽分子量对二氧化硅的形貌有重要影响，小分子量聚赖氨酸（少于100个氨基酸残基）可促进球状二氧化硅的生成，

而大分子量聚赖氨酸（多于100个氨基酸残基）则促进片状六边形二氧化硅的生成。并且，他们证明了硅酸和磷酸离子的参与对于多肽在矿化过程中由无规则向α–螺旋二级结构转变，以及片状结构的形成都有重要作用。Hartgerink等[[81]](#_bookmark168)研究了含有四个氨基酸的脂肽分子介导二氧化硅材料的合成。在二氧化硅的矿化过程中，赖氨酸侧链带有正电的氨基在自组装体形成后暴露在外侧，会对正硅酸乙酯的水解有促进作用，并且因为水解生成的二氧化硅带负电荷，也会被组装体外侧带正电的氨基吸引，最终生成多肽和二氧化硅的复合型纳米管。然而，使用单嵌段氨基酸分子来介导二氧化硅的生物矿化时，因为其多肽分子结构过于简单而缺乏对材料形貌的有效调控，所以通常只能制备单一球形的二氧化硅颗粒。

Xu等[[82,](#_bookmark169)[83]](#_bookmark170)采用两亲性超短肽作为有机模板，体外模拟生物矿化过程，利用表面赖氨酸残

基的导向和催化作用，控制二氧化硅矿物在多肽自组装体表面生长。研究发现所设计的自组装体结构在稀释、高温和有机溶剂环境下依然保持很好的稳定性能，此外，他们通过考察硅酸浓度、反应时间、溶液酸度等对二氧化硅形貌的影响，得到尺寸均一的纳米管和提出相应的仿生合成机理。Stone等[[84]](#_bookmark171)通过改变矿化系统的物理和化学条件，全面系统地研究了利用一系列阳离子多肽作为生物矿化模板，探讨影响介导二氧化硅生物矿化的因素，并得到具有复杂结构的纳米二氧化硅材料（如图1-5）。



图1-5 通过改变矿化体系的物理化学条件仿生合成不同形貌的二氧化硅材料

Fig. 1-5 Schematic outlines of biomimetic silica materials by appling physical and chemical influences[[84]](#_bookmark171).

综上所述，精确调控生物矿物的生长通常主要有两个条件：首先，生物有机大分子能发生预组装形成具有一定有序形貌的稳定自组装体；其次，这些生物有机大分子要作为潜在矿化模板必须具有特定的催化活性基团，能为无机矿物的形貌和生长方式提供良好的介导、调节作用。因此，仿生材料合成的核心及主要问题是如何设计和构造有机大分子模板，为无机相多尺度的分级组装提供理想的模板[[85]](#_bookmark172)。

## 1.4 多肽自组装概述和研究现状

### 1.4.1 多肽分子自组装

分子自组装现象在自然界中广泛存在，它参与着生物体的生命活动，并确保实现了相关的生理功能与生化反应的有序进行。自然界中能够发生自组装的分子包括磷脂、糖类、核酸和蛋白质等。其中，作为分子自组装的重要组成之一，多肽分子的自组装吸引了研究学者们的广泛兴趣。它是指基本结构单元通过多肽分子间的非共价键作用（又称弱相互作用），不受外力影响地自发性形成复杂有序的纳米聚集体[[86]](#_bookmark173)。

近年来，科研工作者们在深入研究多肽自组装的机理与规律的同时，尝试借鉴分子自组装机理和思想，从分子水平上对多肽分子结构进行精心设计，构造具有特殊化学、物理性质的功能性组装体系，以期获得某些功能新颖的自组装结构体，并探求其在新催化剂、生物医用材料、生物活性肽类药物、具有生物相溶性和性能优异的仿生组织功能材料等方面的应用潜力[[87-91]](#_bookmark174). Hartgerink等[[92]](#_bookmark175)将经Mg2+诱导E2(SL) 6E2GRGDS多肽自组装形成纳米棒，并对其进行了药物缓释性能考察。自组装体通过吸收胚胎干细胞分泌的生长因子后，和受损的肾小球上皮细胞进行共培养。研究结果表明，凝胶能够明显降低肾小球上皮细胞

的细胞膜渗透性，并且凝胶在体内能长时间存在而不降解，其稳定性较好，这些性质使其成为理想的注射用材料。Salick等[[93]](#_bookmark176)将MAX1多肽自组装后的凝胶材料用于具有抑菌性能的移植材料研究（图1-6）。他们发现该凝胶材料对外伤感染中较为普遍的革兰阴性菌（肺炎杆菌和大肠杆菌）和阳性菌（表皮葡萄球菌、金黄色酿脓葡萄球菌和酿脓链球菌）均有杀灭作用，抑菌谱较为广泛，但对正常细胞则没有抑制作用；另外，他们在研究抑菌作用的原理时发现，凝胶在与细菌接触的同时是通过破坏细菌的细胞壁，而造成菌体破裂并使细菌死亡的。



图1-6 MAX1凝胶材料的折叠和自组装和机制

Fig. 1-6 Mechanism of folding and self-assembly of MAX1 hydrogel formation[[93]](#_bookmark176).

多肽分子可以自组装形成球状、管状、囊泡和胶束等不同形貌的有序聚集体，其结构主要是受多肽的分子构型、二级结构、多肽分子间微小作用力和分子几何上的兼容的共同

协同作用的影响。多肽自组装体系形成之后，其结构的完整性和稳定性还要依靠非共价键进行维持[[94]](#_bookmark177)。

多肽分子自组装是一种自下而上的纳米材料加工方法，其优点是可以通过改造自然界存在的多肽分子或根据需要改变分子结构来来调控其聚集体的形貌与结构。所以，当要设计特定多肽分子自组装体材料时，需根据多肽分子自组装的原理分析所设计的多肽的分子构型、多肽二级结构可能带来的影响，以及多肽分子结构是否符合化学的互补性和几何上的兼容，并适当调整特定多肽分子的结构设计，才能制备出预期的多肽分子自组装体材料。

### 1.4.2 多肽分子自组装的驱动力

多肽分子自组装是一种由无序到有序、由简单到复杂、由多组份到单一组份的自我完善过程。此过程能够用能量趋向最小化来解释，而其驱动力主要来源于分子间的相互协同作用，例如π–π共轭作用、范德华力、氢键作用、疏水作用与静电作用等弱相互作用力[[95,](#_bookmark178)

[96]](#_bookmark179). 通常情况下，多肽分子自组装的驱动力并非单一的，而会以某种作用力为主，其它几

种作用力共同协同作用的结果。正是因为驱动力具有协同性与多样性的特点，并且每种作用力的强度都比较弱，便于人们对组装体结构与功能进行发行和控制。

#### 1.4.2.1 π–π堆积作用

π–π堆积作用是一种比较弱的非共价相互作用，它是引入不饱和双键在多肽序列中，这通常与芳香性氨基酸（如苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸等）有关。另外，研究表明，一些芳香性氨基酸经常出现在形成淀粉样蛋白的多肽序列中，对多肽自组装体的形成有重要作用。因此，同时引入上述氨基酸和苯环可以提高多肽的疏水作用。Nilsson 等[[97]](#_bookmark180)通过

Ac-(XKXK) 2-NH2（X = Val, Phe, Cha, Ile和F5–Phe）系列多肽来研究疏水作用与π–π共轭作用对多肽自组装的贡献。结果表明，随着多肽疏水性的增强，引发其自组装时所需要的离子浓度会降低；并且，含芳香型氨基酸的多肽分子所自组装形成的凝胶材料会更坚固。

因此，在分子结构中引入π–π共轭键能够优化多肽分子序列的设计以及控制材料的性质。

#### 1.4.2.2 静电作用

静电作用对于蛋白质的结构与稳定性有重要作用，其对多肽分子自组装的影响主要反

应在，带相反电荷的多肽能够利用分子间的静电吸引来相互聚集并形成有序的自组装结构；而带同种电荷的多肽分子在自组装过程中由于受到多肽分子间相互排斥作用的影响而使

分子不能有效地自聚，因此只能形成分散结构。Stupp等[[98]](#_bookmark181)在中性pH条件下，利用带不同电荷的两亲性多肽分子混合构造可成胶的体系（图1-7）。两种多肽分子在单独存在时，由于静电斥力而相互排斥；而在接触后，由于静电吸引作用而自组装形成内部有纳米纤维网络结构的凝胶。该多肽水凝胶的设计体系是通过静电吸引制备得到，能够避免了成胶时的极端酸性环境，还能够将具有不同生理功能的多肽分子结合在一起，从而得到具备多功能的生物材料。因此，我们可以在多肽分子结构的设计时，通过调节改变多肽带电情况来改变多肽分子自组装形成的聚集形貌。



图1-7 带不同生物活性氨基酸序列的两亲性多肽分子构造成单一纤维结构

Fig. 1-7 Single fiber fabricated by amphiphile peptides with different bioactive amino acid sequences[[98]](#_bookmark181).

#### 1.4.2.3 氢键作用

氢键作用在超分子识别和自组装过程中扮演着重要的角色，它主要通过多肽分子中的

H、N和O原子间的相互作用来影响多肽分子结构的排布，使多肽分子在轴的方向上进行延伸，从而形成高度有序的自组装结构体。Hartgerink等[[99]](#_bookmark182)通过逐个屏蔽多肽分子结构中的氢键，研究氢键在两亲性多肽分子的自组装过程中所发挥的作用以及在两亲性多肽分子自组装形成纳米纤维的过程中能发挥重要角色的氨基酸种类（图1-8）。他们的研究表明，外侧氨基酸上氢键的破坏对多肽自组装结构的影响不大；但对于多肽中心氨基酸上氢键的破坏能够影响多肽的微观形态，并对多肽自组装所形成的稳定特殊纳米结构发挥着重要作

用。因此，通过调节多肽分子氢键的作用能够制备微观结构不同而宏观性质相似的材料。



图1-8 两亲性多肽纳米纤维的三维结构示意图

Fig. 1-8 Three-dimensional representation of the regions of amphiphilic peptide nanofiber[[99]](#_bookmark182).

#### 1.4.2.4 疏水作用

作为多肽分子自组装的最主要驱动力，疏水作用在自组装过程中发挥着重要作用。多肽分子的亲水端朝外，而疏水端通过疏水作用聚集形成具有特殊形貌的纳米结构体。利用芳香基团和烷基链增强两亲性多肽分子间的疏水作用，也能够改变多肽分子自组装的聚集行为与形貌。Ventura等[[100]](#_bookmark183)研究对比两种短肽分子（Ile-Phe与Val-Phe）的自组装行为后表明，多肽分子结构中在缺失一个甲基后，其疏水作用会降低，其成胶能力和纤维聚集结构也会消失，该研究表明疏水作用对多肽分子自组装行为和形貌有着重要影响。

#### 1.4.2.5 范德华力

范德华力是一种比较弱的分子间相互作用力，其强度大概是1 Ka/moL，是分子间弱相互作用力中最弱的一种，但当一个超分子具有精确互补态，并且又大量靠近时，它们之间产生的范德华接触较多，帮累加起来也很可观。它由极性分子间永久偶极矩作用产生的静电力，极性分子和非极性分子间永久偶极矩和诱导偶极矩作用产生的诱导力，非极性分子间瞬间偶极矩相互作用产生的色散力三种力组成。范德华力随着原子间距离的增大而快速减少，因为这种引力是当原子间非常靠近时才能产生作用。

### 1.4.3 基于树枝型聚合物的星形嵌段共聚物

树枝状高分子是一类高度对称有序的、三维的单分散性大分子化合物，其结构是由中心核、重复树枝单元和外围基团组成[[101]](#_bookmark184)。因为具有独特的分子结构及表面基团易改造性，能够模拟蛋白质的结构与功能，树枝状高分子在一定程度上模拟生物体系中诱导、调控生物矿化的成核生长与结晶过程[[102]](#_bookmark185)。此外，相对于线型聚合物，树枝状聚合物的三维立体结构使其具有高流变性和大量的末端官能团，分子结构也更为刚性，具有规则的二级结构，不容易发生分子链缠绕的问题[[103]](#_bookmark186)。因此，树枝状高分子是一类性能优异、适用于模拟生物矿化的大分子模板。虽然树枝状聚合物种类很多，但目前用于模拟生物矿化研究的树枝状聚合物并不多，近年来才逐步有将树枝状高分子应用于无机物生物矿化过程的研究，并且主要集中在碳酸钙和羟基磷灰石矿物上的仿生研究[[104-106]](#_bookmark187)。

树枝型高分子主要包括结构规整的树形高分子（Dendrimer）和超支化高分子

（Hyperbranched polymer）等。树形高分子具有高度可控的化学组成与尺寸、多重外围官能团及其内部孔径可控等特点[[107,](#_bookmark188)[108]](#_bookmark189)。因为树形高分子是通过共价键连接而形成单分子，能够看作成稳定的单分子胶团，因而很适合在生物矿化中作为有机模板。然而，树形高分子的最大缺点就是合成过程复杂、成本较高。相比较而言，超支化高分子合成步骤简单、成本较低。虽然超支化高分子有较宽的分子量分布和结构不归整性，但它与树形高分子具有相类似的结构（如图1-9所示）。所以，近年来用超支化高分子替代树形高分子的应用研究呈现出增长趋势[[109-113]](#_bookmark190)。



图1-9 超支化高分子自组装形成具有生物还原性的胶束

Fig. 1-9 Hyperbranched polymers and self-assembled bioreducible micelles[[111]](#_bookmark192).

Kim等[[114]](#_bookmark193)在过饱和碳酸氢钙水溶液与空气的界面上，使用两种不同分子量的超支化聚乙烯亚胺（PEI）制备了两种亚稳态的碳酸钙晶体。研究发现，PEI2000矿化合成了针状的文石相碳酸钙，而PEI25000则矿化介导得到半球形的霰石相碳酸钙，这可能与不同分子量的PEI与CO3-之间作用的强度有关。Yan等[[115,](#_bookmark194) [116]](#_bookmark195)通过把超支化聚合物和双亲水嵌段共聚物的概念结合，设计合成了双亲水型的端羧基超支化聚缩水甘油醚（HPG-COOH），并利用HPG-COOH粘合/助溶链段摩尔比调控碳酸钙结晶。他们发现，HPG-COOH能够有效调控碳酸钙由无定形纳米颗粒变成无定形空心球，再转变为霰石相碳酸钙空心球。此外，随着粘合/助溶链段摩尔比从0.1增大至0.9，碳酸钙晶体的形貌从松塔状转变为橄榄状，最后形成高度单分散的碳酸钙微球（如图1-10）。研究结果表明，晶体生长调控剂的拓扑结构能够影响生物矿化过程，同时，非经典结晶过程对于构造多级微结构有重要作用。



图1-10 HPG-COOH在不同粘合/助溶链段摩尔比下与CaCO3反应的模型图

Fig. 1-10 Models of HPG-COOH with different RI/S interacting with CaCO3 .

[[116](#_bookmark195)]

### 1.4.4 两亲性多肽分子自组装

近年来，怎样合理设计多肽分子结构的组装方式并赋予其自组装体的功能化，已成为研究学者们遇到的机遇和挑战。与传统的两亲性分子相比，基于仿生矿化技术研究开发的两亲性多肽具有无毒、可生物降解吸收、生物兼容性和生物活性好等优势，使它们在生物医学领域、生物材料等具有很好的应用前景[[117-120]](#_bookmark196)。与生物体中的磷脂双分子层在组成上有相类似的双亲性结构，两亲性多肽分子以极性氨基酸作为多肽亲水部分，以非极性氨基酸作为多肽疏水部分，其中亲水头部与疏水尾部通常是由共价键进行连接。研究发现，一定浓度的两亲性多肽分子溶解在纯水时，亲水的头部则暴露在外部水中，而疏水的尾部通过疏水作用倾向于聚集在一起，即疏水部分在水中会以根据能量最低原则发生聚集。当这类分子在适当酸度和盐浓度的溶液中，可以在液相中与界面上自组装形成各种形貌的有序纳米结构体，包括纳米囊泡、纳米胶束、纳米管、纳米纤维等（图1-11）[[121]](#_bookmark197)，通常该过程最主要的驱动力之一是疏水相互作用力。这些纳米材料在物理、化学、生物和医药材料方面具有独特结构和优异性能，且形貌可控、易于对其分子进行结构功能性的修饰。所以，对基于多肽自组装的生物矿化领域中，两亲性多肽分子自组装的研究受到人们最为普遍的关注：不仅能够作为微反应器、离子通道及生物马达，而且能够用于表面改性和组织工程；既能够作为有机模板诱导纳米无机晶体的成核生长，又具有一定的抗肿瘤和抗菌活性。



图1-11 设计合成的两亲性多肽分子的TEM和AFM 图

Fig. 1-11 TEM and AFM image of designer lipid-like peptide surfactant[[121]](#_bookmark197).

#### 1.4.4.1 两亲性短肽分子的种类

两亲性多肽分子按照构筑基元的种类基本上能够分成三大类[[122,](#_bookmark198) [123]](#_bookmark199)：

第一大类，多肽分子自组装构筑基元的亲疏水链均由氨基酸残基组成的两亲性多肽分子。此类多肽分子的疏水的尾部有若干个疏水氨基酸残基，亲水的头部带有一到两个带电荷的氨基酸残基。此类多肽分子在发生自组装时，疏水基团间的相互作用起着主要的驱动作用力，多肽链间的氢键作用作为辅助，其多肽分子在自组装体中的二级结构是以经典的

β–折叠存在。比如，L3K多肽在水中自组装形成球形胶束，A9K多肽自组装形成纳米线，而L6K2, V6K2和V6H2多肽自组装成纳米管[[94,](#_bookmark177) [124]](#_bookmark200)。

第二大类，亲水段为氨基酸残基与疏水段为长烷基链相互连接而成的两亲性多肽分子。此类多肽分子在水中通常自组装形成纳米线结构，并且因为其表面存在容易功能化的极性肽链片段，此类两亲性多肽自组装体通常被用来构造响应性的功能生物材料。Stupp等[[125]](#_bookmark201)研究了以组氨酸为催化中心，DNPA为底物的两亲性多肽分子自组装纳米线的水解酶模型。由疏水的烷基链和亲水的组氨酸的多肽链组成的两亲性多肽分子构筑基元，在水溶液中亲水基团通过多肽间的氢键作用来形成β–折叠构象，疏水基团之间则通过疏水作用力聚集，最终自组装成纳米线结构。当多肽纳米线作为载体时，催化中心组氨酸被有序地集中到同一有序的纳米聚集体中，而且其内部拥有高度有序的β–折叠构象，可以在催化中心的周围形成容易与底物结合的憎水性环境。因此，以多肽纳米线为载体的水解酶模型与球形聚集

体相比，表现出了较强的水解酶活力。

第三大类，由两端为亲水的氨基酸与中间为疏水的长烷基链组成的类似哑铃形的两亲性多肽分子。Matsui等[[126,](#_bookmark202) [127]](#_bookmark203)以具有pH响应调控形貌特性的Bola型两亲性多肽分子为研究对象，首先自组装形成多肽纳米管，并通过氢键作用力在多肽纳米管上固定具有仿生功能的多肽序列，作为有机模板介导多种金属纳米颗粒在多肽纳米管表面沉积和生长，获得了高密度覆盖的金属纳米管。

#### 1.4.4.2 两亲性短肽分子的研究现状

多肽分子及其衍生物因为可以自组装形成稳定、有序的纳米或微细结构，所以在纳米材料的合成上会是一种很有应用价值的新型生物材料。在新兴的多肽自组装分子中，两亲性短肽分子具有合成简单、生物相容性良好、自组装调节因素众多、降解性能卓越和自组装体结构稳定等优点，其自组装过程已经引起科学家们的普遍关注[[128,](#_bookmark204) [129]](#_bookmark205)。科学家们期望通过深入了解生物矿化中多肽自组装的作用和机制，以期合成出结构和性能新颖的功能器件与材料，并在抗菌材料、生物医学、药物载体、组织工程及作为生物矿化模板合成有机

–无机复合材料等方面有巨大的应用潜力。

受到自然中的膜脂质分子的启发，研究学者们设计出一种类似磷脂的两亲性多肽分子，与天然的磷脂尺寸（2.5 nm）相近，并且具有类似两亲性结构，可以通过疏水作用力自组装形成有序、稳定的纳米管状或纳米囊泡状材料。两亲性短肽分子的自组装肽设计很灵活，不仅是N端还是C端都能够设计成亲水头，通过向分子结构中增加或减少氨基酸的个数能够调节多肽链的长度。多肽的尾部通常是由3-9个非极性疏水性氨基酸（包括V、A、G、

I、F、L和P等），多肽的头部通常则由1-2 个亲水的电荷氨基酸（包括D、H、R、K 和

E等）。两亲性短肽分子的尾部与头部的氨基酸还可用其他一些天然或一些非天然的氨基酸替换，例如利用缬氨酸和丙氨酸作为疏水性尾部，磷脂丝氨酸作为亲水性头部，能够模拟磷脂在纯水中的自组装。它们能够在纯水中自组装形成具有脂质双层类似结构的双分子层纳米囊泡或纳米管，是一种理想的纳米载药材料，以及应用在溶解和稳定膜蛋白方面[[130]](#_bookmark206)。例如，两亲性短肽分子Ac-GAVILRR-NH2，是由非极性氨基酸GAVIL作为多肽链的疏水尾部，由两个正电荷氨基酸RR组成多肽链的头部。这种短肽在溶液中可自组装形成圆锥形纳米结构，然后圆锥形可再组装形成纳米棒状结构，圆锥形的构象结构能够固定膜蛋白，这为研究穿膜离子通道以及设计结构新颖的纳米缓控释药物材料提供了很好的思路[[131,](#_bookmark207) [132]](#_bookmark208)。

Zhang等[[133]](#_bookmark209)利用两亲性短肽分子V6D固定PSI，这是光电转换过程中非常重要的一种膜蛋白。他们的研究表明，该膜蛋白经V6D多肽稳定后，可以在干燥表面上保持很长时间，这种分子机器将可能在探索可长时间持续供应的环保型安全能源时有着令人振奋的效果。后来，他们研究了带有相反电荷的两个两亲性短肽分子A6D与A6K之间的协同作用对其自组装结构的影响，发现不同的混合摩尔比例能够导致不同的共自组装形貌[[134]](#_bookmark210)。此外，两亲性短肽分子自组装形成管状的纳米材料，能够作为带有负电荷的RNA与DNA以及不溶性药物的载体，这使其作为生物活性分子的载体将是一个非常有吸引力的研究方向。Xu等[[135]](#_bookmark211)为了研究疏水段氨基酸残基对两亲性短肽分子自组装体形貌的影响，设计合成了三个系列的两亲性短肽分子。研究结果发现，改变短肽分子疏水段氨基酸残基的类型或个数能够调控其在水溶液中自组装的尺寸和形貌；当异亮氨酸残基组中氢键占主导作用时，有形成β–折叠的强烈趋势，从而自组装体趋向形成纳米纤维状材料；而当亮氨酸残基组中疏水作用占主导作用时，形成β–折叠的趋势相对较弱，自组装体则趋向形成纳米球状胶束。该研究结果将为设计新型两亲性短肽分子自组装材料开辟了新的思路。

因此，要以两亲性短肽分子自组装体作为有机模板来仿生制备各类有机–无机复合材料，应当满足以下条件：一是，多肽自组装体外表面分布着对矿化反应具有催化功能或对无机矿物具有较强特异性亲和力的活性基团；二是，作为有机模板的多肽分子自组装体的结构在矿化反应过程中应当具有一定的稳定性。目前国内外对两亲性短肽分子的研究主要侧重在如何控制双亲短肽的自组装形貌与结构，以及其自组装机理探讨方面，但是对其自组装后的应用，特别是在生物矿化方面所做的应用研究相对较少。所以，我们在研究理解两亲性短肽分子自组装机制的同时，还应该进一步深入研究其自组装聚集体的应用，这将是科研工作者下一步的主要任务之一。

### 1.4.5 影响多肽分子自组装的因素

多肽分子自组装的过程由各种非共价键作用力的相互协调和平衡来维持。当多肽自组装体系环境改变而破坏原有平衡时，其纳米形态结构通常也会发生相应改变。为了根据需要合成出理想的多肽纳米材料，对多肽分子自组装过程的理解是非常有必要的。据报道，通过控制很多物理化学因素可以达到控制多肽分子自组装过程的目的，这些因素包括多肽分子的氨基酸序列、多肽浓度、有机溶剂、变性剂（SDS和尿素等）、自组装溶液环境（酸度、离子强度和温度等）、自组装时间以及超声等。下面详细介绍各因素对多肽分子自组

装的影响：

#### 1.4.5.1 多肽分子氨基酸序列对多肽分子自组装的影响

多肽氨基酸序列（包括氨基酸的数目、排列顺序、类型及其构型等）是影响多肽分子自组装的内在因素，决定着肽的多肽分子自组装体形貌及二级结构的重要因素[[136,](#_bookmark212) [137]](#_bookmark213)。例如，由16个氨基酸残基组成的EAK16-II在缓冲溶液中能够自组装形成一宏观膜，但在同样的反应体系中，EAK12成膜的程度却低很多，而EAK8-II甚至不能成膜，这可能是因为不同的多肽链长度存在不同的静电作用力及离子对数。即使是相同长度、同样氨基酸组成的多肽链，如果它们的电荷氨基酸排列顺序不相同，多肽分子自组装后的纳米材料形貌也会不相同。例如，EAK16-I和EAK16-II在纯水中会自组装形成纤维状的纳米材料，其中EAK16-II倾向于形成β–折叠的二级结构，其自组装体形貌为线性纳米纤维。然而，EAK16-IV通过分子内较强的静电吸引力，而形成β–转角二级结构来降低其表面张力，其自组装体形貌则是球形纳米聚集体（如图1-12所示）[[138,](#_bookmark214) [139]](#_bookmark215)。除了氨基酸数目和排列顺序之外，多肽链氨基酸的类型及其构型对其自组装后所形成纳米材料的形貌也有重要影响。EFK8-I在纯水中自组装形成β–折叠二级结构，当保持其他条件不变（如电荷分布），其分子中的F被替换为A时，在纯水中却自组装形成了无规卷曲的二级结构，这可能与苯丙氨酸的体积大、疏水性强有利于形成β–折叠有关。



图1-12 EAK16-II和EAK16-IV多肽的分子结构与自组装形貌

Fig. 1-12 Molecular model and AFM images of EAK16-II and EAK16-IV[[138,](#_bookmark214) [139]](#_bookmark215).

#### 1.4.5.2 pH值对多肽分子自组装的影响

溶液的pH值是生物系统中影响蛋白质和多肽结构的重要环境因素之一。由于多肽氨基酸序列的差异，导致不同多肽存在不同的等电点，pH值的改变能够直接影响到电荷氨基酸以及整个多肽链的带电状态，继而影响到多肽分子间的静电作用、蛋白质的聚集和多肽的自组装情况。此外，pH值的大小对不同电荷分布的离子互补型两亲性肽的影响也不一样。例如，Tan等[[140]](#_bookmark216)发现多肽RETEA16多肽在生理条件下能自组装形成高度有序的纳米纤维结构。当pH值大小变化的条件下，该凝胶可以在“溶液一凝胶一沉淀”三种状态间的发生互变（如图1-13所示），且各种状态在互变过程中可逆，其驱动力包括疏水作用、分子间氢键和静电作用。



图1-13 RATEA16多肽在不同pH环境中的自组装情况

Fig. 1-13 Self-assembly of RATEA16 peptide at different pH conditions[[140]](#_bookmark216).

#### 1.4.5.3 浓度对多肽分子自组装的影响

多肽溶液的浓度是影响多肽分子自组装以及多肽自组装后所形成纳米结构与形貌的因素之一。离子互补型多肽与表面活性剂一样具有两亲性，并且都存在着“临界聚集浓度”问题。例如，Zhao 等[[141]](#_bookmark217) 发现半程电荷匹配的离子互补型九 肽

（N-Pro-Ser-Phe-Cys-Phe-Lys-Phe-Glu-Pro-C）在水溶液中能自组装形成纳米棒状结构，但其自组装体形貌会随着浓度的改变而改变。Aggeli等[[142]](#_bookmark218)设计了由11个氨基酸残基组成的离子互补型肽P11–I，其电荷分布为+、–型。P11–I多肽自组装得到的纳米结构会随着多肽浓度的改变而改变：当多肽浓度很低时，以无规则卷曲的状态存在；当多肽浓度高于0.01

mM时，自组装形成β–折叠的带状纳米结构；而当多肽浓度提高到1 mM时，自组装形成的是疏松绸缎状纳米结构；若当多肽浓度继续提高，将会出现多肽凝胶。另外，Chen等[[143]](#_bookmark219)研究发现互补性两亲多肽EAK16-II也有类似现象：当离子互补性两亲多肽EAK16-II的浓度低于其临界聚集浓度（约60 uM）时，可自组装形成球状和细丝状结构，并且网状密集程度与纤维大小和多肽浓度相关；但当多肽浓度高于其临界聚集浓度时，EAK16-II多肽会自组装成网状结构的纳米纤维。类似地，离子互补型肽EAK16-I的自组装体结构会随着多肽浓度的变化而转变：当多肽浓度为0.05 mg/ml时，从球形结构转变为纤维形貌；当多肽浓度提高到0.3 mg/ml时，纳米纤维的粒径会增大。

#### 1.4.5.4 离子强度对多肽分子自组装的影响

溶液中的离子强度也是生物系统中影响蛋白质和多肽结构的重要因素。盐离子的加入一般会影响生物活性分子的性质（包括稳定性、生物活性和溶解性等）、构象与组装体纳米结构的形成，这可能是因为盐离子能够屏蔽电荷基团而引起分子间的静电作用力减少，增大多肽分子的疏水作用力，并促进了多肽分子的聚集[[144]](#_bookmark220)。例如，在盐离子的存在下，

Hong等设计的离子互补型两亲肽EAK16-I（AEAKAEAKAEAKAEAK）在较低浓度下能够自组装成有序纳米纤维结构（无盐条件下，同浓度时没有形成有序结构），并且在20 mM

NaCl溶液中，该离子互补型两亲肽（0.3–0.8 mg/ml）所自组装形成纳米纤维的粒径会变大

[[145]](#_bookmark221). 离子强度的增大能够有效屏蔽多肽分子本身的静电荷，从而改变其聚集形态。另外，

溶液中离子的加入能够在多肽分子的极性氨基酸间构筑盐桥，可以增强多肽分子间形成物理交联。Castelletto等[[146]](#_bookmark222)研究发现，当将NaCl溶液加入到AAKLVFF多肽中时，多肽自组装体的形貌会由卷曲纤维状转变为晶体状纳米条带；而NaCl浓度的升高使βAβAKLVFF

多肽纤维的卷曲程度增大，并自组装形成多肽纳米管（如图1-14所示）。因此，我们能通过调节体系的离子强度来改变多肽分子的聚集与解聚情况，从而使其自组装结构发生变化。



图1-14 βAβAKLVFF多肽在纯水和NaCl中自组装形貌的TEM 图

Fig. 1-14 TEM images ofβAβAKLVFF peptide dissolved in water and NaCl[[146]](#_bookmark222).

#### 1.4.5.5 温度对多肽分子自组装的影响

温度对多肽分子自组装体系的影响，一般体现在对多肽分子自组装的机制与速率造成影响。当自组装体系的温度升高，其多肽分子的氢键会被破坏，继而影响到多肽自组装体系的稳定性；并且不同的多肽分子结构受温度的影响也不尽相同。例如，Norden等[[147]](#_bookmark223)在研究浓度、pH值、温度和离子强度对AXG两亲性多肽自组装结构的影响时发现，AKG

与ARG多肽表现出对温度的稳定性，而ADG的二级结构在20°C到98°C则会由β-折叠转变成无规则卷曲（如图1-15所示）。Zhang等[[148,](#_bookmark224) [149]](#_bookmark225)发现EAK16-II多肽在生理条件下能形成稳定的β–折叠二级结构，然而当体系温度升高到70°C时，多肽二级结构会转变成α-螺旋，并且在冷却的过程中仍能保持稳定的α–螺旋二级结构，直到几周后结构恢复成β-折叠的二级结构。后来，他们发现离子互补型两亲性肽D-EAK16在室温下自组装形成β-折叠结构，当体系温度升高至80°C，逐渐转变成α-螺旋结构。并且该多肽由4°C加热至110°C，再由110°C 降至4°C，其结构会呈现可逆的转变。Schneider等[[150]](#_bookmark226)用苏氨酸替换掉

MAX1多肽7位和16位上的缬氨酸后，能够自组装成温敏性水凝胶。当温度由5°C升高到80°C时，多肽分子中β–折叠的含量会升高，再自组装形成水凝胶；这种状态是互相变换的，当体系温度恢复到原温度时，又转变回非折叠状态，并且多肽的疏水性越强，实现状态互变时所需的温度也会越低。该课题组同时研究发现，MLD多肽体系温度的升高会使其发生自组装形成交联的纤维结构，并引发多肽分子二级结构转变成β–折叠[[151]](#_bookmark227)。



图1-15 温度对多肽二级结构的影响

Fig. 1-15 Effect of temperature on secondary structure[[147]](#_bookmark223).

#### 1.4.5.6 光照对多肽分子自组装的影响

通过在多肽分子结构中引入特殊的光敏基团，能够观察到其对多肽分子自组装的影响。最初，光敏基团能阻碍多肽分子的有效自组装，并使其不能形成具有特定形貌的纳米结构，但通过光照后，多肽分子中含有的光敏基团会从侧链上切除，多肽的自组装行为和形貌都可发生改变。例如，Muraoka等[[152]](#_bookmark228)把二硝基苯引入到两亲性多肽序列中，在特殊光照使光敏基团脱落后，使原来为四聚体的多肽纤维转变成单条、无螺旋的直纤维（如图1-16）。



图1-16 光照使多肽光敏基团脱落

Fig. 1-16 The 2-nitrobenzyl group is cleaved to afford 2 after irradiation of 1[[152]](#_bookmark228).

#### 1.4.5.7 时间对多肽分子自组装的影响

多肽分子自组装是一个与时间相关的动态过程。例如，Chen等[[143]](#_bookmark219)在研究浓度对多肽自组装的影响时发现，离子互补型肽EAK16-II的多肽浓度在其临界聚集浓度附近时，其自组装情况随时间变化不相同：低于临界聚集浓度浓度时，随着时间的变化，其静态光散射的强度基本不变；高于临界聚集浓度时，该多肽自组装过程很快能够完成。Zhang等[[153]](#_bookmark229)发现KFE8-I (FKFEFKFE)多肽在自组装早期形成左手螺旋缎的纳米带状结构，然而随着时间的改变，该带状结构逐步组装形成纳米网状结构。同时，具有类似结构的离子互补型肽RADA16-I（RADARADARADARADA）在自组装结构被机械力破坏后，其二级结构能够随着时间的变化逐渐恢复[[154]](#_bookmark230)。

## 1.5 论文选题依据

经过多年的努力，研究学者们对生物矿化机制的探讨和仿生合成纳米功能材料的合成做了大量的研究工作，许多具有特定性能及特殊形貌的仿生材料不断地被制备出来。然而，因为生物矿化系统的复杂性，如何构建结构新颖的有机大分子模板，研究有机大分子中官能团在矿化过程中的特定作用，并理解其在仿生合成无机材料过程中的矿化机理，仍是仿生合成研究面临的问题。此外，以生物大分子为有机模板来诱导有机–无机功能材料的仿生合成及机理研究的工作依然处于探索阶段，所取得的成果很多是经验性的，难以实现对矿化材料的结构和形貌进行精确调控。所以，如何设计和构造有机大分子模板，为无机相多尺度的分级组装提供理想的模板并可控地仿生合成纳米功能材料是当前实现仿生材料合成的核心及主要方向。

星形多肽具有纳米范围内高度可控的尺寸、化学组成、多重外围官能团及其内部可控孔径等特性，在溶液中能形成稳定的单分子胶团，分子结构也更为刚性，具有规则的二级结构，不会发生分子链缠绕的问题，因而很适合在仿生合成无机材料中作为精确调控介导体；两亲性短肽分子合成简单、结构易改造、在溶液中能够自组装形成各种规整结构的超分子聚集体，也非常适合应用于仿生诱导合成各种具有复杂结构的仿生功能材料。基于此，本论文设计并合成了一系列具有不同分子结构特征的星形多肽和两亲性短肽分子，利用多肽组装体作为仿生合成二氧化硅的有机模板，通过改变反应体系的物理化学条件，用简单可行的方法来构建具有特定功能的结构化有机模板，实现特定形貌的无机材料的可调合成。我们通过使用不同表征手段（原子力显微镜、圆二色谱、红外光谱、扫描电镜和透射电镜等）来系统探究两亲性短肽分子自组装结构、有机大分子模板和无机离子相互作用的机理，从分子水平上分析比较多肽分子结构、多肽自组装体形貌与二氧化硅形貌之间的关系。这些工作可以完善和扩展仿生合成二氧化硅材料的理论及其应用，同时本文所做的基础性、原理研究，能为仿生合成出特定形貌和复杂结构的无机功能材料提供新的理论指导和实验依据，相信这些研究工作会有一定的科学意义与潜在的应用价值。据此，本论文主要进行以下研究工作：

(1)通过分子改性来设计合成出具有催化正硅酸乙酯水解活性的、不同分子结构特征的系列星形多肽和两亲性短肽分子，研究在中性条件下，不同疏水基氨基酸残基的类型和数目的两种多肽分子在水溶液中的自组装情况，并考察不同离子类型对多肽自组装体的影

响。我们通过分析组装体形貌及其二级结构的关系，揭示星形多肽和两亲性短肽的分子结构和多肽自组装聚集体结构与尺寸之间的规律；

(2)以星形多肽和两亲性短肽构筑基元组装形成的纳米聚集体为有机模板，以正硅酸乙酯为硅源，诱导合成不同结构与形貌的二氧化硅复合材料，并在不同矿化体系中，探索物理化学因素对仿生合成无机材料的形貌和结构影响及调控规律。通过无机离子在有机–无机界面上矿化成核的观察以及界面变化信息，提出星形多肽和两亲性短肽分子作为有机模板诱导合成二氧化硅材料的矿化机理模型。

## 1.6 论文的设计思路和研究内容

### 1.6.1 论文的设计思路

利用生物矿化的基本原理来仿生合成具有特定形貌的无机材料是材料化学的前沿研究方向。目前，由于生物矿化过程的复杂性，对无机材料的可控合成和机理研究还处于初步探索阶段。本论文设计合成一系列分子结构简单、驱动力丰富的星形多肽和两亲性短肽作为矿化模板，系统研究不同物理化学条件（如多肽浓度、溶液离子类型和外加电场等）对仿生合成具有特定形貌的二氧化硅材料的影响。通过模拟生物体内矿化过程，研究多肽分子结构的调节对其组装形成纳米结构以及矿化材料形貌的影响，探讨“多肽分子结构一自组装体形貌一二氧化硅矿化物形貌”三者之间的关系和矿化机理，进而实现对二氧化硅材料的结构与形貌进行可控仿生合成。

### 1.6.2 论文的研究内容

##### （1) 设计与合成具有良好稳定性和催化活性的星形多肽和两亲性短肽分子

采用液相合成法制备了4种星形嵌段共聚物：聚乙烯亚胺-聚赖氨酸PEIm-*g*-PLLn（m =

1800或10000；n = 10或20），并通过核磁氢谱和凝胶渗透色谱仪表明目标多肽聚合物具有较高纯度。

采用Fmoc–固相合成法合成了9种双亲性短肽XmK，并以高效液相色谱和质谱表征其纯度。所设计合成的两亲性短肽分子的疏水基团位于多肽链N–端，是分别由3-9个丙氨酸、

缬氨酸和异亮氨酸3种氨基酸残基组成；而两亲性短肽分子的亲水基团位于多肽链C–端，是由1个赖氨酸残基组成，使其在水溶液中可以通过质子化统一带上1个正电荷。

##### （2) 研究多肽分子在不同溶液环境中的组装情况

采用透射电镜和原子力显微镜对星形多肽和两亲性短肽在纯水中的组装形貌进行表征，并确定它们的组装体形貌；通过红外光谱仪和圆二色光谱仪表征多肽在水溶液中所形成的二级结构，分析探讨多肽分子结构与自组装体形貌的关系和规律。此外，由于多肽分子组装所形成的纳米结构与其组装驱动力的强弱密切相关，盐离子的加入能使多肽分子间的非共价键作用力（如氢键作用、静电作用和疏水作用力等）改变。因此，我们通过在多肽溶液中加入不同类型的离子，考察无机离子的加入对两种多肽分子组装体形貌的影响。

##### （3) 探究不同物理化学条件下多肽分子介导合成二氧化硅复合材料的影响

在常温常压和中性pH值条件下，以星形多肽和两亲性短肽分子组装体作为有机模板，正硅酸乙酯作矿化硅源，利用多肽组装体表面赖氨酸残基的诱导和催化作用仿生合成出具有特定形貌的二氧化硅材料。主要考察不同物理化学条件（如多肽分子结构、多肽浓度、离子类型和外力场等）对二氧化硅材料矿化形貌的影响。最后，结合原子力显微镜、红外光谱仪、圆二色光谱仪及扫描电镜等表征手段，研究分析多肽分子结构、多肽组装体形貌及二氧化硅材料结构三者间的关系，分别提出以星形多肽和两亲性短肽分子自组装体作为矿化有机模板时，仿生合成二氧化硅材料的矿化机理模型。

## 1.7 论文的创新点和技术路线

### 1.7.1 论文的创新点

（1）通过设计合成了不同结构特征的星形多肽和两亲性短肽分子，分子结构简单、易于改性，能够方便、灵活地通过改变有机模板的结构来调控矿化产物的结构和形貌，有利于分析比较不同的多肽分子对多肽自组装和二氧化硅矿化形貌的影响，进而探索仿生合成中“多肽分子结构一组装体结构一矿化产物形貌”三者之间的关系；

（2）通过多肽分子自组装形成超分子结构聚集体作为二氧化硅矿化的有机模板，仿生合成出具有复杂结构的有机–无机材料。通过调节多肽分子末端功能基团，并配合自组

装及仿生合成过程中物理化学条件（如浓度、离子类型和外力场等）的调控，系统地认识两种类型的多肽分子介导二氧化硅材料的调控因素及矿化规律，实现对二氧化硅材料的结构和形貌的精确调控，探索使这一经验性实验向人为可精确调控的方向发展的方法和措施。

### 1.7.2 论文的技术路线



# 第二章 星形多肽共聚物介导二氧化硅的仿Th合成

## 2.1 前言

生物矿化现象广泛存在于自然界中，生物矿化物由于具有结构精美、形貌特异和极好的物理化学性能等特征，其矿化形成过程对于指导人们合成结构新颖、性能优良的功能性材料具有重要意义。目前，对生物矿化的研究已经成为材料科学的研究热点[[5,](#_bookmark113)[30,](#_bookmark131)[31,](#_bookmark132)[57,](#_bookmark146)[155]](#_bookmark231)。仿生合成是基于生物矿化原理发展起来的材料制备手段，它可以在温和的条件下进行，从而避免了传统化学合成无机材料的高温、高压和强酸强碱等极端条件。并且，在仿生合成过程中，存在着有机大分子调控无机离子的成核、生长及加工，形成结构精美、形貌特异的有机–无机复合材料[[2,](#_bookmark110) [58]](#_bookmark147)。因此，在仿生合成过程中最为关键的是生物有机模板的选择。

线型多肽聚合物已被广泛应用于仿生合成具有特定形貌的无机材料。但由于其分子量分布有一定的分散性，并且在溶液中易形成无规团聚，难以构建有序结构的超分子聚集体，因而较难实现对材料的结构、形态及性能的精确调控[[103]](#_bookmark186)。近年发展起来的基于树枝状高分子的无机材料合成引起了人们的广泛关注。由于其三维立体的球状分子形态创造了独特的分子内部纳米级空穴，可螯合包裹无机盐离子和作为小分子反应的催化活性位点，适合作为生物矿化的软模板，模拟调控和制备具有特殊形貌和多级结构的无机功能材料[[156,](#_bookmark232) [157]](#_bookmark233)。

树枝状高分子主要包括结构规整的树形高分子和结构不规整的超支化高分子，它们都具有高度支化的分子结构。虽然超支化高分子的结构不如树形高分子完美，但它的物理化学性质与树形高分子相似，如大量的末端官能团、良好的溶解性和柔韧性等，且它的合成步骤简单、成本低[[158-161]](#_bookmark234)。另外，近年来有关自组装的报道也表明，超支化高分子与线性嵌段共聚物有类似的自组装性能，它是一类高度支化的准球形大分子，在其分子结构中存在着大量内部空穴和末端官能团，可以组装成多种形状规整的超分子组装体，如胶束、薄膜、纤维及带状管子等。超支化聚合物独特的结构和性能特点使其在纳米晶体制备、基因转染和药物缓释等领域具有广阔的应用前景[[110,](#_bookmark191) [162-165]](#_bookmark235)。

本论文提出了如图2-1所示的基于星形多肽共聚物作为潜在矿化有机模板。结构单元上采用不同分子量（1800和10000）的聚乙烯亚胺（PEI）内核，引发不同长度（10和20）的聚赖氨酸（PLL）。利用星形多肽PEIm-*g*-PLLn自组装体为模板，通过改变星形多肽的分

子结构和矿化体系的反应条件，从而影响星形多肽的构象及其之间的相互作用和自组装体的形貌，并对二氧化硅的成核和组装过程进行有效调控，以仿生合成具有特定形貌的二氧化硅材料。



图2-1 星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn分子结构

Fig. 2-1 Chemical structure of PEIm-*g*-PLLn.

## 2.2 实验部分

### 2.2.1 实验仪器与试剂

表2-1 实验所用仪器和设备

Table 2-1 Apparatus used in the experiments

| 设备名称 | 设备型号 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| 高灵敏度电子天平 | UMX2 | 瑞士梅特勒–托利多公司 |
| 精密 pH 计 | PHS–2C | 上海康仪仪器有限公司 |
| 台式高速离心机 | TG15M | 长沙平凡仪器仪表有限公司 |
| 超声仪 | KQ 218 | 昆ft市超声仪器有限公司 |
| 冻干浓缩一体机 | Freezone 4.5 | 美国 Labconco 公司 |
| 凝胶渗透色谱仪 | 515–410 | 美国 Waters 公司 |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |
|  | 设备名称 | 设备型号 | 生产厂家 |  |
|  | 旋转蒸发器 | RE–52AA | 上海亚荣生化仪器厂 |  |
|  | 核磁共振仪 | AMX 400 | 德国 Bruker 公司 |  |
|  | 扫描电子显微镜 | JSM–6360LA | 日本电子株式会社 |  |
|  | 透射电子显微镜 | JEM–1400 | 日本电子株式会社 |  |
|  | 综合热分析仪 | TA-50H | 日本岛津公司 |  |
|  | 圆二色谱仪 | MOS 450 | 法国 Biologic 公司 |  |
|  | 傅立叶变换红外光谱仪 | Magna IR–750 | 美国 Thermo Nicolet 公司 |  |

表2-2 实验所用原料和试剂

Table 2-2 Material and solvents used in the experiments

| 试剂名称 | 试剂规格 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| ε-苄氧羰基-L-赖氨酸 | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| 超支化聚乙烯亚胺 | A.R | Sigma-Aldrich |
| 三乙胺 | A.R | Sigma-Aldrich |
| 二氯甲烷（DCM） | A.R | Sigma-Aldrich |
| N,N 一二甲基甲酰胺（DMF） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 正硅酸乙酯（TEOS） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 磷酸钠（Na3PO4） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 碳酸钠（Na2CO3） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 硫酸钠（Na2SO4） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 三氟乙酸（TFA） | A.R | Shanghai Darui Co. |
| 活性炭 | A.R | 国药集团化学试剂有限公司 |
| 二甲基亚砜（DMSO） | A.R | 国药集团化学试剂有限公司 |
| 三光气 | A.R | 国药集团化学试剂有限公司 |
| 乙醚 | A.R | 国药集团化学试剂有限公司 |
| 碳酸氢钠（NaHCO3） | A.R | 国药集团化学试剂有限公司 |
| 氯化钠（NaCl） | A.R | 国药集团化学试剂有限公司 |
| 盐酸（HCl） | A.R | 汕头西陇化工有限公司 |

### 2.2.2 星形多肽共聚物的合成

##### （1) ε-苄氧羰基-L-赖氨酸羧酸酐（ZLL-NCA）的合成（反应如图2-2所示）

在ε-苄氧羰基-L-赖氨酸（10 g）中加入乙酸乙酯（400 mL），油浴加热，并通入N2并搅拌。当温度升至40°C 时，加入干燥的三光气（2.4 g），继续加热至回流，然后在0.5 h、1 h后再分别投入1.2 g和0.6 g的三光气。反应至溶液澄清透明后停止加热，持续搅拌并通N2 20 min，加入celite助滤剂。然后在N2的保护下抽滤，滤液转移至预冷的分液漏斗中，冷冻90 min。往冷冻好的分液漏斗中分别加入冷藏饱和NaHCO3溶液、饱和NaCl溶液，轻摇分液漏斗，静置分层，放出下层的溶液，分别重复3次。将上层液体注入到冷冻

的装有干燥硫酸镁的具塞三角瓶中，-18°C 下冷冻过夜。过滤以上溶液，然后浓缩至约150

mL，缓慢滴加冷却的石油醚，直至沉淀完全析出。在N2保护下，趁冷过滤得到白色的赖氨酸酸酐晶体。将粗品干燥1 h，再溶于乙酸乙酯（150 mL）中，并滴加石油醚，至刚好出现沉淀，静置0.5 h，再置于-18°C下冷冻过夜。在氮气保护下抽滤，并用石油醚洗涤。将晶体真空干燥，提纯的ZLL-NCA置于茄形瓶中，在-18°C 下冷冻保存。



图2-2 合成ε-苄氧羰基-L-赖氨酸羧酸酐（ZLL-NCA）

Fig. 2-2 Synthesis ofε-Benzyoxycarbonyl-L-Lysine-N-Carboxyanhydride (ZLL-NCA).

##### （2) 聚乙烯亚胺一聚苄氧羰基赖氨酸星形共聚物（PEIm-*g*-PZLLn）的制备（反应如图2-3

所示）

在圆底烧瓶中，取适量的新制单体ZLL-NCA溶于50 mL DCM溶液中，在N2保护下搅拌。然后，在上述溶液中加入适量的PEI-DMSO溶液，用氮气球多次置换圆底烧瓶中的空气。溶液反应8 h后，将溶液用三倍乙醚沉淀，过滤、干燥和冷冻得到PEIm-*g*-PZLLn。



图2-3 合成星形共聚物聚乙烯亚胺-聚苄氧羰基赖氨酸

Fig. 2-3 Synthesis of star-block copolymer PEIm-*g*-PZLLn.

##### （3) 聚乙烯亚胺一聚赖氨酸（PEIm-*g*-PLLn）的制备（反应如图2-4所示）

将聚合物PEIm-*g*-PZLLn加入到TFA中，室温下搅拌1 h，使其充分溶解。然后，加入苯甲醚和甲磺酸，继续在室温下搅拌反应1.5 h。反应结束后，用水稀释，然后倒入分液漏

斗中，用乙醚清洗3次（清洗过程中应剧烈震摇，以除去苯甲醚及过量的酸）。弃去乙醚层后，水相部分用饱和NaHCO3中和，先对NaOH溶液（pH = 11.0）透析5天，再对水透析5天。最后冻干得到的产物PEIm-*g*-PLLn。



图2-4 合成星形多肽共聚物聚乙烯亚胺-聚赖氨酸

Fig. 2-4 Synthesis of star-block copolymer PEIm-*g*-PLLn.

### 2.2.3 实验试剂的制备

##### （1) 星形多肽共聚物溶液的配制

称取一定质量的PEIm-*g*-PLLn溶解于超纯水中，配成实验所用浓度的多肽溶液，然后在室温下静置，备用。

##### （2) 新鲜硅酸溶液的制备

取200μL TEOS加入1.5 ml HCl中，振荡、摇匀，然后在100 W功率条件下超声15 min，得到新鲜的硅酸，备用。

### 2.2.4 星形多肽共聚物仿Th合成二氧化硅材料

文献上对于合成二氧化硅复合材料的方法已有许多报道[[80,](#_bookmark167)[166,](#_bookmark236)[167]](#_bookmark237)，本课题组也做了大量的前期研究工作[[168-170]](#_bookmark238)。本实验我们选用星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn为有机模板、TEOS为硅源来合成二氧化硅材料。具体过程如下：将多肽溶液（100μL）与Na3PO4溶液（300μL）混合15 min，加入一定量的新制硅酸溶液。摇匀，静置反应一定的时间后，能够观察到有白色沉淀生成。然后将反应体系离心（14000 rpm, 10 min）3次，沉淀分别用无水乙醇及超纯水反复洗涤3次，以除去无机离子、残余的多肽及硅酸。最后将所得白色沉淀加水稀

释，滴样，用氮气缓慢干燥，待表征。为了考察不同浓度对PEI10000-*g*-PLL20矿化过程的影响，硅酸前驱体与赖氨酸残基数的比例（δ）由3逐步调节到18；另外，为了考察不同离子对PEI10000-*g*-PLL20矿化过程的影响，我们分别使用Na2CO3溶液和Na2SO4溶液，代替矿化体系中的Na3PO4溶液，重复上述操作过程。

## 2.3 结果与讨论

### 2.3.1 星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn的纯度鉴定

为了对合成产物的纯度进行鉴定，我们采用凝胶渗透色谱仪（Gel Permeation Chromatography, GPC），DMF或0.1 mol L-1 HAc-NaAc溶液（pH 4.5）为流动相，测得的星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn如图2-5所示。本实验所合成的星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn为球形分子，通过GPC表征得到的分子量均不同程度地小于理论分子量。但是GPC测得的四种星形嵌段共聚物的分散度都趋近于1，证明共聚物具有较高纯度，其结构符合本实验的设想。



图2-5 星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn的GPC 图

Fig. 2-5 GPC elution curves of PEIm-*g*-PLLn.

星形多肽共聚物PEIm-*g*-PZLLn在DMSO–d6中的核磁共振（Proton Nuclear Magnetic Resonance, 1H NMR）图谱如图2-6(a)所示。由图可知1H NMR谱图内的各峰与PEIm-*g*-PZLLn

上的氢成一一对应的关系，并且各峰的面积比与理论比一致，证明PEIm-*g*-PZLLn合成成功。星形多肽共聚物聚乙烯亚胺-聚赖氨酸（PEIm-*g*-PLLn）在D2O中的1H NMR 图谱如图2-6（b）所示。由图可知1H NMR谱图内的各峰与PEIm-*g*-PLLn上的氢成一一对应关系，并且各峰的面积比与理论比一致，证明PEIm-*g*-PLLn合成成功。



图2-6 1H NMR表征图：(a) PEIm-*g*-PZLLn，溶剂为DMSO–d6；(b) PEIm-*g*-PLLn，溶剂为D2O

Fig. 2-6 1H NMR spectra of (a) PEIm-*g*-PZLLn in DMSO–d6 and (b) PEIm-*g*-PLLn in D2O.

### 2.3.2 星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn的形貌研究

我们采用透射电镜（Transmission Electron Microscopy, TEM）检测了合成的星形多肽共聚物的形貌。检测发现，聚合物的形状呈球形，且其尺寸（粒径约为90 nm）与理论尺寸相符，证明聚合物合成成功。PEIm-*g*-PLLn系列多肽在纯水中的TEM图如图2-7所示。



图2-7不同星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn在纯水中的TEM图：(a) PEI1800-*g*-PLL10, (b) PEI1800-*g*-PLL20, (c) PEI10000-*g*-PLL10和(d) PEI10000-*g*-PLL20

Fig. 2-7 TEM images of(a) PEI1800-*g*-PLL10, (b) PEI1800-*g*-PLL20, (c) PEI10000-*g*-PLL10, and (d)

PEI10000-*g*-PLL20 in pure water.

同时，为了研究多肽二级结构与其组装形貌之间的关系，我们通过圆二色谱（Circular Dichroism, CD）表征星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn在纯水中的二级结构（如图2-8表示）。从图中可以看出，四种多肽的吸收峰强度有差别，但在203 nm附近处都有一个负峰，表明PEIm-*g*-PLLn系列多肽在纯水中均主要形成无规卷曲的二级结构。



图2-8 不同星形嵌段共聚物PEIm-*g*-PLLn在纯水中的CD 图

Fig. 2-8 CD spectra of PEIm-*g*-PLLn in pure water.

### 2.3.3 分子结构对PEIm-*g*-PLLn仿Th合成二氧化硅材料形貌的影响

研究表明，硅酸在纯水中的溶解度很低，主要以带负电荷的低聚体与Si(OH) 4的形式存在，所以在没有有机大分子模板的参与时，分子间由布朗运动而发生相互碰撞的机率很低，要产生二氧化硅沉淀比较困难。当加入阳离子多肽作为有机模板后，能够借助多肽链上的带电基团以及能形成氢键的基团使Si(OH) 4足够靠近，从而诱导硅酸分子间的缩聚[[171]](#_bookmark239)。因此，我们选择星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn为矿化模板，能够利用亲水端的赖氨酸残基催化二氧化硅的沉淀，并在分子水平上调控特殊二氧化硅复合材料的合成。

通过扫描电镜（Scanning Electron Microscopy, SEM）表征PEIm-*g*-PLLn系列星形多肽共聚物（PO43-矿化体系）在温和条件下诱导二氧化硅材料的形貌，我们发现多肽链长度对矿化产物的调控有重要影响（如图2-9所示）。随着多肽链长度的增大，二氧化硅材料的

形貌和尺寸相应地发生了变化：PEI1800-*g*-PLL10能够介导形成长度约600 nm，宽度约80 nm的球状二氧化硅颗粒（图2-9a）；PEI1800-*g*-PLL20在生物矿化中介导形成长度约500 nm，宽度约140 nm的球状二氧化硅颗粒（图2-9b）；PEI10000-*g*-PLL10能够介导形成长度约2.1

μm，宽度约300 nm的球状二氧化硅颗粒（图2-9c）。在中性条件下，PEIm-*g*-PLLn在纯水中形成纳米囊泡结构，外层的赖氨酸侧链带正电荷（其等电点PI约为9.2）并裸露在纳米囊泡结构的外面，在生物矿化过程中起催化和诱导二氧化硅在多肽表面有序沉积的作用。

结果表明，小分子量的PEI1800-*g*-PLL10、PEI10000-*g*-PLL10诱导合成的二氧化硅在长度和粒径上，均比大分子量的PEI1800-*g*-PLL20、PEI10000-*g*-PLL20的要小；在亲水基相同长度时（如PEI1800-*g*-PLL10和PEI10000-*g*-PLL10），所诱导合成的化二氧化硅在长度差别不大。有趣的是，随着内核和疏水尾部氨基酸残基的增大，二氧化硅的生物矿化表现出有趣现象，PEI10000-*g*-PLL20能够介导形成长度约3μm，宽度约360 nm的纤维状二氧化硅颗粒（图2-9d）。以上结果表明，我们可以通过控制多肽分子的结构来仿生合成到具有特定形貌的二氧化硅材料。我们将以PEI10000-*g*-PLL20为研究对象，继续考察浓度和溶液离子对矿化产物的影响。



图2-9 不同星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn（PO43-矿化体系）介导合成的二氧化硅SEM图：

(A) PEI1800-*g*-PLL10, (b) PEI1800-*g*-PLL20, (c) PEI10000-*g*-PLL10和(d) PEI10000-*g*-PLL20

Fig. 2-9 SEM spectra of silica mediated by (a) PEI1800-*g*-PLL10, (b) PEI1800-*g*-PLL20, (c) PEI10000-*g*-PLL10, and (d) PEI10000-*g*-PLL20, respectively. The additive anion was phosphate.

### 2.3.4 浓度对PEI10000-*g*-PLL20多肽仿Th合成二氧化硅材料形貌的影响

在温和条件下，保持其他矿化条件不变，我们考察了硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例

（*δ*）对PEI10000-*g*-PLL20 多肽（PO4 矿化体系）介导二氧化硅材料形貌的影响。

3-

图2-10 分别表示硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例为3、5、11和18仿生合成得到的二

氧化硅材料形貌图。当*δ*= 3时，PEI10000-*g*-PLL20能诱导形成表面光滑、尺寸规整的球状二氧化硅材料，其粒径约为520 nm（如图2-10a所示）；当*δ*= 5时，球形二氧化硅的粒径增大至1.2μm，同时可以发现相邻颗粒间能发生粘连形成链状结构，形貌层次不是很清晰

（如图2-10b所示）；当*δ*增大到11和18时，PEI10000-*g*-PLL20分别介导硅酸溶液生成纤维状（图2-10c）和六边形的片状（图2-10d）二氧化硅材料。通过以上实验结果分析得出：不同的硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例对PEI10000-*g*-PLL20介导的二氧化硅的形貌有较大影响。值得注意的是，与星形多肽共聚物不同的是，线形聚合物介导合成二氧化硅的形貌与其分子量密切相关：小分子量PLL（氨基酸残基数少于100）可诱导生成球状二氧化硅材料，而大分子量PLL（氨基酸残基数多于100）则介导片状二氧化硅的生成[[79,](#_bookmark166) [80,](#_bookmark167) [84]](#_bookmark171)。这可能与星形多肽共聚物的三维立体球形分子结构有关：其结构中具有许多末端官能基团以及独特的分子内空腔，能在水溶液中组装形成特殊结构的超分子聚集体。因此，PEIm-*g*-PLLn多肽在溶液中的聚集体结构类似于胶束，但比线性多肽分子有较高的稳定性、机械强度和特殊的自组装功能，能作为性能优异的有机模板介导合成不同形貌的二氧化硅材料。



图2-10 PEI10000-*g*-PLL20多肽在不同硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例下介导合成的二氧化硅SEM图：(a)*δ*= 3, (b)*δ*= 5, (c)*δ*= 11和(d)*δ*= 18

Fig. 2-10 SEM spectra of silica directed by PEI10000-*g*-PLL20 at different*δ*values: (a) 3, (b) 5, (c) 11, and (d) 18. The additive anion was phosphate.

### 2.3.5 离子类型对PEI10000-g-PLL20多肽仿Th合成二氧化硅材料形貌的影响

功能性氨基表面只有在合适的离子中才能促进特定形貌硅材料的成核，因此离子对多肽介导二氧化硅材料形貌有重要影响[[54,](#_bookmark145)[79,](#_bookmark166)[167,](#_bookmark237)[172]](#_bookmark240)。我们前面已经考察了星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn在PO43-体系中的矿化，下面研究CO32-和SO4离子对PEI10000-*g*-PLL20多肽介导合成二氧化硅材料的影响，如图2-11所示。在温和条件下，PEI10000-*g*-PLL20多肽在CO3和SO42-矿化体系中介导合成出由大量排列紧密、表面光滑、层次清晰和尺寸规整的纤维状的二氧化硅材料。但跟PEI10000-*g*-PLL20/PO43-矿化体系能够在不同比例下仿生合成出不同的二氧化硅形貌不同，改变PEI10000-*g*-PLL20/CO32-和PEI10000-*g*-PLL20/SO42-体系中硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例只能介导合成出形貌单一的二氧化硅材料，这可能因为PO43-与体系中硅酸前驱体形成氢键的强度比CO3和SO4更强有关。以上实验结果证明，多价阴离子在星形多肽介导二氧化硅的沉淀过程中发挥着重要的协同作用，而且多肽与离子形成复合物的类型对其介导合成二氧化硅材料的结构和形貌具有较大影响。

2-

2-

2- 2-



图2-11 PEI10000-*g*-PLL20在不同离子条件下介导合成的二氧化硅SEM图：(a) PEI10000-*g*-PLL20/CO32-和(b) PEI10000-*g*-PLL20/SO42-

Fig. 2-11 SEM spectra of PEI10000-*g*-PLL20-directed silica structures using (a) carbonate and

(B) sulfate as the additive anions.

### 2.3.6 离子类型对PEI10000-*g*-PLL20组装的影响

为了探讨PEI10000-*g*-PLL20多肽介导合成二氧化硅材料的机理，我们进一步以TEM 和

CD表征技术研究了多肽在不同离子中的形貌与矿化产物之间的关系。由TEM结果可以观察到，PEI10000-*g*-PLL20多肽在CO32-、SO42-和PO43-三种离子中均组装成球形纳米颗粒，其粒径分别为280 nm、600 nm和957 nm（如图2-12所示）。虽然这些纳米颗粒在形貌上与

PEI10000-*g*-PLL20多肽在纯水中时（图2-7d）无差别，但在尺寸上发生了明显的增大。我们猜测这是由于多肽在离子中受到氢键和静电作用的影响发生了聚集而引起。CD 对不同离子中的PEI10000-*g*-PLL20多肽二级结构表征结果如图2-13所示。PEI10000-*g*-PLL20多肽在CO32-、SO42-和PO4中，其CD谱图在208 nm附近处有一个负峰，说明其二级结构主要是无规则卷曲。与PEI10000-*g*-PLL20 多肽在纯水中的二级结构相比（图2-8），加入离子后对其构象无明显影响。因此，以上结果表明，尽管离子对星形多肽共聚物PEI10000-*g*-PLL20诱导特殊形貌的二氧化硅材料有重要作用，但仍不足以保证形成规则形貌的二氧化硅结构。这与前期对线性的PLL和无机离子介导合成特定二氧化硅材料的研究结果类似[[54,](#_bookmark145) [167]](#_bookmark237)。

3-



图2-12 PEI10000-*g*-PLL20在不同离子条件中的TEM图：(a) PEI10000-*g*-PLL20/CO32-, (b) PEI10000-*g*-PLL20/SO42-和(c) PEI10000-*g*-PLL20/PO43-

Fig. 2-12 TEM images of PEI10000-*g*-PLL20 in (a) carbonate, (b) sulfate, and (c) phosphate, respectively.



图2-13 PEI10000-*g*-PLL20在不同离子条件中的CD 图

Fig. 2-13 CD spectra of PEI10000-*g*-PLL20 in different anions.

### 2.3.4 星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn仿Th合成二氧化硅复合材料的成分分析

我们选取PEI10000-*g*-PLL20多肽在PO4 体系的矿化产物为代表，分别利用X射线能谱

3-

（Energy Dispersive Spectroscopy, EDS）、红外光谱分析（Fourier Transformed Infrared Spectroscopy, FT-IR）和热失重分析（Thermogravimetric Analysis, TGA）表征技术分析星形多肽共聚物作为有机模板时，介导合成二氧化硅材料的成分分析（图2-14）。



图2-14 PEI10000-*g*-PLL20介导仿生合成二氧化硅复合材料的成分分析：(a) X射线能谱图，

（b）红外光谱图和（c） 热失重图

Fig. 2-14 Component analysis of PEI10000-*g*-PLL20/silica hybrid particles by (a) EDS, (b) FT–IR spectra, and (c) TGA.

图2-14a为PEI10000-*g*-PLL20多肽诱导合成的二氧化硅复合材料的EDS图，可以定性及半定量地分析矿化产物的成分组成。从能谱图可以得知，在0.535 Kev和1.816 Kev处分别代表氧元素和硅元素的Ka能级吸收峰，而0.275 Kev是碳元素的K层电子经过高能电子束的轰击后所产生的特征X射线能谱峰。其中，根据反应物判断，碳元素主要来源于多肽。同时，我们以FT–IR表征方法PEI10000-*g*-PLL20多肽诱导合成的二氧化硅复合材料的成分（图2-14b）。在1652 cm-1处的吸收峰是酰胺I键（*v*C=O）的特征峰，1546 cm-1处的吸收峰是酰胺II键（δN–H）的特征峰，前者说明复合材料中多肽二级结构为无规卷曲；1072 cm-1、953 cm-1和790 cm-1处的三个吸收峰分别是代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动和–Si–O–Si–的对称伸缩振动。如图2-14c所示，PEI10000-*g*-PLL20多肽仿生合成的二氧化硅材料在25–100°C范围有一个失重峰，这是由产物表面的吸附水挥发导致的；而在100–200°C范围的失重峰则是产物中的结合水脱除峰。随着温度的提高，在270–550°C出现了产物的主要失重峰：270–450°C 范围的失重峰是由于材料内部多肽、添加剂分解所引起的；

450–550°C范围的失重峰可能是与二氧化硅材料结合的多肽分解所导致的。之后，TGA曲线逐步趋于平缓，证明多肽与添加剂等已几乎分解完毕。根据TGA结果计算出，有机成分在PEI10000-*g*-PLL20多肽介导合成得到二氧化硅复合材料的含量为13%。以上结果表明，我们仿生合成的产物为PEI10000-*g*-PLL20多肽和二氧化硅的复合材料。

## 2.4 星形多肽共聚物**PEIm-*g*-PLLn**仿Th合成二氧化硅材料的机理讨论

根据实验结果和以上分析，我们提出了星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn仿生合成二氧化硅材料的机理模型：星形多肽在无机离子中组装形成聚集体，加入硅酸溶液后，多肽表面带正电的氨基会通过静电相互作用吸附带负电的硅醇分子，使二氧化硅纳米粒子之间相互靠近，并促进硅粒子在多肽表面上解离、成核和生长，因此多肽在矿化过程中发挥催化剂和介导剂的作用。在中性条件下，PEI1800-*g*-PLL10、PEI1800-*g*-PLL10和PEI10000-*g*-PLL10三种星形多肽共聚物介导合成出球状的二氧化硅材料。而PEI10000-*g*-PLL20介导合成二氧化硅材料的形貌与体系的离子类型、硅酸浓度与赖氨酸残基数的比例（*δ*）有关，如图2-15所示。PEI10000-*g*-PLL20在CO32-和SO42-矿化体系中主要介导合成出纤维状的二氧化硅材料，而在PO43-的矿化体系中分别矿化合成出球状（*δ*= 3）、纤维状（*δ*= 11）和片状（*δ*= 18）的二氧化硅材料。我们认为，多价阴离子可以通过氢键和静电作用作为交联剂与星形多肽PEI10000-*g*-PLL20形成聚集体，在二氧化硅的沉淀过程中发挥着重要的协同作用。因此，造成二氧化硅矿化材料形貌的差异可能与星形多肽的分子结构、多肽和无机离子形成复合物

的类型、“星形多肽一无机离子一硅酸”三者形成的矿化体系中静电作用与氢键的强度等有关。当星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn的内核较小和外围的PLL较少时，它们的分子内氢键的数目少，所形成的胶团不够稳定，从而在矿化体系中倾向形成能量更低的球状材料。此外，TEM和CD结果表明，星形多肽PEIm-*g*-PLLn、无机离子和硅的中间体一起参与了介导合成具有特定形貌的二氧化硅材料的整个矿化过程。



图2-15 具有不同形貌二氧化硅材料的仿生合成机理模型

Fig. 2-15 Proposed model for the morphological evolution of silica materials.

## 2.5 本章小结

本章实验主要研究了设计合成的星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn在水溶液中的组装情况，并考察了在不同条件下，以多肽组装体为有机模板仿生合成了二氧化硅材料，实现了二氧化硅无机材料的可控成核与生长。根据以上实验得出了如下结论：

（1）本实验成功设计和合成了以超支化聚乙烯亚胺PEI为内核、以聚赖氨酸PLL为外围的星形多肽共聚物。通过改变内核PEI的大小和PLL长度，得到了4种星形多肽共聚物。用1H NMR和GPC结果表明所合成的星形多肽共聚物具有较高纯度，TEM实验数据表明星形多肽PEIm-*g*-PLLn在纯水中主要以囊泡结构存在，而通过CD表征多肽在水溶液中的二级结构均为无规则卷曲。同时，我们发现无机离子的加入对星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn在溶液中的形貌和二级结构无明显影响，但有利于多肽分子之间的聚集；

（2）利用基于星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn为有机模板，在温和条件下，仿生合成了二氧化硅材料并研究了该类多肽矿化合成特定形貌的条件。我们通过改变多肽分子结构

（内核PEI的大小和PLL链长度）及溶液条件（离子种类和多肽浓度等）对二氧化硅无机材料的仿生合成进行有效调控，分别仿生合成出球状、纤维状和片状的二氧化硅材料，弄清作为模板的多肽分子自组装结构与矿化后无机材料形貌与结构的关系。根据实验结果，我们发现星形多肽PEIm-*g*-PLLn、无机离子和硅酸共同参与了介导合成二氧化硅材料的整个矿化过程。最后，我们提出了星形多肽共聚物PEI10000-*g*-PLL20在不同条件下仿生合成二氧化硅的矿化机制模型。因此，以上结果表明了星形多肽共聚物PEIm-*g*-PLLn可以作为在无机材料的仿生矿化中理想的有机模板。

# 第三章 两亲性短肽的设计、合成和表征

## 3.1 前言

材料学领域的重要挑战是设计合成出一种结构新颖稳定、价格低廉、生物降解性能良好的多功能性材料。在仿生材料合成方向，有机大分子模板扮演着重要角色，所以在分子水平上设计有机模板显得很重要。近些年，基于仿生技术研究开发的两亲性短肽，以其新颖的聚集体形态（如管状、纤维状、球状和片状等）、丰富的自组装驱动力（如静电相互作用、疏水基相互作用、π–π堆积作用、范德华力和氢键等）和良好的易改造性，并且分子结构全部由生物体内发挥重要作用的蛋白质基本元件一氨基酸残基所组成，使其具有生物相容性。两亲性短肽与传统的表面活性剂相比具有无可比拟的优势，在药物载体、分子识别和生物材料的合成等方面具有广阔的应用前景，同时也使其成为模拟生物矿化极为理想的模板之一[[173]](#_bookmark241)。Ghadiri等[[174]](#_bookmark242)设计合成了D、L–α–氨基酸交替连接形成闭合的自组装环肽(*cyclo*-[(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala) 2-])，通过环肽间相互作用排列所形成的纳米管在水和有机溶剂中有良好的机械性和热稳定性。Zhang等[[130,](#_bookmark206)[175]](#_bookmark243)设计了系列结构简单的多肽分子，其亲水端是由1到2个的带电荷氨基酸残基（如天冬氨酸）组成，疏水端则由多于4个的氨基酸残基（如丙氨酸）构成。此类两亲性多肽分子在水溶液中可以自组装形成不同结构的纳米材料，而且有稳定膜蛋白的良好功能。

本实验设计合成的多肽是全部由氨基酸残基组成的一系列具有不同分子结构特征和性质的两亲性短肽XmK（X = alanine, valine和isoleucine; K = lysine）：多肽链N–端的疏水基团，由3、6、9个Ala（A）、Val（V）及Ile（I）等疏水氨基酸连续组成；多肽链C–端的亲水基团，由1个带正电荷的亲水的基团Lys（K）残基组成，通过改变两亲性多肽分子的疏水氨基酸类型和残基数目以期改变其结构与性能。

多肽的合成是一种反复添加氨基酸的过程，其合成顺序一般是从C–端（羧基端）向N–端（氨基端）来进行。多肽的化学合成方式可分为固相多肽合成及液相多肽合成。固相合成法相对于液相合成法有明显的优势：固相合成法容易实现仪器的自动化，克服了液相合成法的费时与烦琐，操作简单、方便快捷，且提高了反应的精确度和成功率；能够更为充分地利用热力学因素和动力学因素，让合成反应彻底进行；可以简化合成完成的后处理步

骤，提高了处理效率[[176-178]](#_bookmark244)。经过科研人员多年不断的努力改进，目前多肽固相合成技术已日趋成熟，被广泛应用于蛋白质及多肽等领域的研究。多肽固相合成有tBoc和Fmoc两种，而tBoc法通常需要使用到腐蚀性和毒性较大的氢氟酸，因此现在普遍采用Fmoc固相合成法合成多肽[[178,](#_bookmark245) [179]](#_bookmark246)。

本实验应用Fmoc微波固相合成的方法合成具有不同结构的两亲性短肽分子，然后通过反相高效液相色谱（RP–HPLC）及电喷雾质谱（ESI–MS）对目标多肽进行分析、纯化和表征，并使合成产物的纯度满足后续多肽自组装和仿生合成二氧化硅材料实验的要求。

## 3.2 实验部分

### 3.2.1 实验仪器与试剂

表3-1 实验所用仪器和设备

Table 3-1 Apparatus used in the experiments

| 设备名称 | 设备型号 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| 高灵敏度电子天平 | UMX2 | 瑞士梅特勒－托利多公司 |
| 精密 pH 计 | PHS–2C | 上海康仪仪器有限公司 |
| 台式高速离心机 | TG15M | 长沙平凡仪器仪表有限公司 |
| 超声仪 | KQ 218 | 昆ft市超声仪器有限公司 |
| 台式高速冷冻离心机 | Centrifuge 5810R | 德国 Eppendorf 公司 |
| 冻干浓缩一体机 | Freezone 4.5 | 美国 Labconco 公司 |
| 微波多肽合成仪 | Liberty | 美国 CEM 公司 |
| 旋转蒸发器 | RE–52AA | 上海亚荣生化仪器厂 |
| 圆二色谱仪 | MOS 450 | 法国 Biologic 公司 |
| 原子力显微镜 | Multimode Nanoscop IIIa | 美国 Digital Instrument 公司 |
| 傅立叶变换红外光谱仪 | iS5 | 美国 Thermo Nicolet 公司 |

表3-2 实验所用原料和试剂

Table 3-2 Material and solvents used in the experiments

| 试剂名称 | 试剂规格 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| Fmoc-L-Ala-OH | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| Fmoc-L-Val-OH | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| Fmoc-L-Ile-OH | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| Fmoc-L-Lys(Boc)-OH | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| MBHA 树脂 | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| 三异丙基硅烷（TIS） | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| 1-羟基苯并三氮唑（HOBT） | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| 二异丙基乙胺（DIEA） | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| 1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐（HBTU） | A.R | 上海吉尔生化有限公司 |
| 二氯甲烷（DCM） | A.R | Sigma-Aldrich |
| N,N-二甲基甲酰胺（DMF） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 三氟乙酸（TFA） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 乙酸酐 | A.R | 汕头西陇化工公司 |
| 哌啶 | A.R | 汕头西陇化工公司 |
| 乙醚 | A.R | 汕头西陇化工公司 |

### 3.2.2 两亲性短肽的合成

多肽的固相合成法基本原理：首先，将不溶性的高分子树脂通过共价键的形式与目的肽链C–端氨基酸的羧基相连接；然后，以该氨基酸作为第一个构筑单元，脱除其氨基的保护基，继续与侧链保护的第二个氨基酸的羧基通过酰胺化反应来形成肽键，重复操作，让多个氨基酸分子连接在多肽链上，以制备所需序列的肽链；最后，把多肽链从高分子树脂上裂解下，同时脱去侧链的保护基，经纯化后可得到目标多肽序列。其具体合成过程包括

（如图3-1）：

##### （1）脱保护。为了使得氨基酸之间能够发生化学反应，在连接下一个氨基酸之前，首先要脱去树脂上氨基酸氨基的保护基团；

##### （2）活化与交联。为了让羧基与胺反应生成生成肽键，氨基酸的羧基需要活化。通

常用HBTU和HOBT活化剂来活化羧基，其原理是通过反应来引入电荷受体，活化剂可以降低羰基碳上的电荷密度，促使氨基部分通过亲核进攻来形成肽键。活化反应结束后，在活化碱的参与下，活化的氨基酸与原本连在树脂上的氨基酸发生反应形成新的肽键。不断重复以上过程，直至目标多肽序列在树脂上的制备完成；

##### （3）裂解。合成结束后，需要将多肽从树脂上裂解下。脱除剂一般通过一定浓度的

TFA和水、苯甲硫醚、EDT、苯酚按比例进行裂解。脱除剂能够通过中和侧链保护基在裂解时产生的阳离子，来阻断这些阳离子再次连接在多肽链上；

##### （4）纯化。蒸除多肽粗品中的DCM、TFA等杂质后，用7-8倍残液体积的冰乙醚反复沉淀离心、冲洗纯化，然后通过冷冻干燥得到纯化的目标多肽，密封并冷冻保存。



图3-1 多肽固相合成法的流程

Fig. 3-1 Stepwise solid-phase synthesis of peptides[[178]](#_bookmark245).

### 3.2.3 多肽产物的表征

#### 3.2.3.1 高效液相色谱分析

反相高效液相色谱（RP–HPLC）实验方法：采用C18反相色谱柱（4.6 mm×250 mm），仪器型号Waters–2695 alliance HPLC色谱。流动相：A为0.1%的TFA超纯水溶液；B 为

0.1%的TFA的乙腈溶液。流速：1.0 mL/min，紫外检测波长：214 nm（酰胺键的最大吸收波长），柱温：25°C 。

#### 3.2.3.2 质谱分析

我们在实验中采用电喷雾质谱技术（ESI–MS）对所合成产品进行多肽分子量分析，测定所合成多肽分子量的准确性（仪器型号Finnigan Mat TSQ 7000）。

## 3.3 结果与讨论

### 3.3.1 多肽分子结构的设计

自然界中存在有20多种氨基酸，由于不同氨基酸的结构、极性、疏水性、分子大小和电荷性质差异较大，其发生自组装的作用力也不完全一致，这些氨基酸能够通过不同组合而形成各种类型的两亲性多肽，并能自组装形成不同形貌的纳米结构。

基于此，本论文根据氨基酸的不同特性设计合成了一系列具有类似表面剂特性的两亲性短肽分子XmK，其多肽分子模型、分子结构分别见图3-2和3-3。设计合成的系列多肽只有在赖氨酸（pKa = 10.5）的侧链氨基上带电荷，在中性溶液中都带有一个正电荷。而侧链氨基酸间的疏水相互作用能够对纳米结构的形成有影响，因此本实验选择了这3种不带电荷的疏水氨基酸作为多肽疏水尾端来进行对比研究。通过改变多肽分子疏水端氨基酸残基数目、疏水端的侧链，从而调控多肽在水溶液中的自组装结构，研究不同分子结构对自组装体形貌的影响，并探讨其自组装的机制。



图3-2 设计的多肽分子模型

Fig. 3-2 Molecular models of designed short amphiphilic peptides.



图3-3 设计的多肽分子结构式

Fig. 3-3 Molecular structure of designed short amphiphilic peptides.

### 3.3.2 高效液相色谱结果分析

以RP–HPLC检测的所合成两亲性短肽纯度的结果如图3-4，图3-5及图3-6所示。因为肽键在220 nm具有紫外吸收，所以RP–HPLC谱图为220 nm时的谱图。图3-4中分别表示A3K、A6K和A9K的RP–HPLC谱图，检测时梯度相同。从图中我们可以看出A3K、

A6K和A9K的保留时间分别为10.185 min、10.593 min及13.702 min，这是由于反相色谱中样品的保留时间通常会随疏水相互作用的增加而增加，因此本实验结果符合反相色谱柱保留值的特征。并且，图谱中主要有一个单峰，这说明所合成的两亲性短肽的纯度很高（A3K、

A6K和A9K三种多肽纯度分别为96.87%、97.93%和96.35%)。



图3-4 反相高效液相色谱谱图：(a) A3K，(b) A6K及(c) A9K Fig. 3-4 RP-HPLC spectra of (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K.

从图3-5的RP–HPLC谱图中可以看出A3K、A6K和A9K的保留时间分别为8.992 min，

9.382 min及10.628 min。另外，图谱中主要有一个单峰，这说明所合成的多肽的纯度很高，疏水链中氨基酸个数小于6，多肽的纯度可以达到96%以上（V3K及V6K多肽纯度分别为

98.94%和96.15%），而V9K除了一个主单峰以外，还有一个比较小的杂峰，我们通过色谱图峰面积所占百分比可以算出V9K多肽纯度为95.2%。这可能因为当合成多肽的疏水链氨基酸的个数多于6时，产物中会有部分合成不完全的、结构类似的杂质（如V7K和V8K）。



图3-5 反相高效液相色谱谱图：(a) V3K，(b) V6K及(c) V9K Fig. 3-5 RP-HPLC spectra of (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K.

图3-6分别为I3K、I6K和I9K的RP–HPLC谱图，结果证明其保留时间分别为8.313 min、

9.511 min和10.484 min，这也符合保留时间随多肽疏水链的增长，其出峰的保留时间增长

的特点。图谱中主要有一个单峰，这说明所合成的多肽的纯度较高（I3K、I6K和I9K三种多肽纯度分别为95.63%、96.08%和95.79%）。



图3-6反相高效液相色谱谱图：(a) I3K, (b) I6K及(c) I9K Fig. 3-6 RP-HPLC spectra of (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K.

### 3.3.3 质谱结果分析

我们对所设计合成的多肽产品进行ESI–MS质谱表征。图3-7、图3-8和图3-9分别代表AmK、VmK和ImK系列多肽的质谱结果。其中，质谱图中主峰所显示的质荷比为g/mol。

图3-7 a为A3K的质谱图，该质谱结果中主峰所显示的质荷比是400.78为其分子离子

峰，而A3K理论分子质量为400.24 g/mol，说明了产物中含有A3K。并且，我们可观察到图谱中的主峰突出，杂峰较少，说明合成产物A3K多肽纯度较高。

图3-7b为A6K的质谱图，613.94为其分子离子峰，而A6K理论分子质量613.35，说明了产物中含有A6K。636.38为A6K在Na的影响下所产生的。因此，谱图中所显示的主峰均为A6K所产生，且图谱中的杂峰较少，说明合成产物A6K多肽纯度较高。

图3-7c为A9K的质谱图，该质谱结果中主峰所显示的质荷比是827.77，而A9K理论分子质量826.47，说明了产物中含有A9K。851.01为A9K在Na的影响下所产生的。谱图中所显示的主峰均为A9K所产生，杂峰较少，所以证明了所合成的产物A9K多肽纯度较高。

图3-8 为VmK系列多肽的质谱图，从图能够看出，V3K、V6K和V9K的质谱图分别在

484.94、782.80和1080.37处有一个高峰，而它们的理论分子质量分别为484.34 g/mol、781.54

g/mol和1079.42 g/mol，证明合成产物均为目标多肽并且纯度较高。同时，我们也发现，对于疏水端氨基酸个数多于6的V9K多肽，其质谱显示目标多肽含有少量结构类似的杂质

（如V7K、V8K等），这与此前RP–HPLC的表征结果一致。

图3-9a为I3K的质谱图，我们由图能够看出，该质谱图在526.98和548.97处有两个高峰。其中526.98为其分子离子峰（I3K多肽的理论分子质量526.38 g/mol）。而548.97处的峰是I3K多肽在Na的影响下产生的。同时，图谱的主峰突出，图中出现的杂峰较少，说明合成产物为目标多肽I3K且纯度较高。

图3-9b 为I6K的质谱图，多肽在867.00处有主要的出峰（I6K多肽的理论分子质量

865.64 g/mol）。因此，由图中可以看出，样品的主峰突出，杂峰较少，说明合成产物为目标多肽I6K并且纯度较高。

图3-9 c为I9K的质谱图，其理论分子质量为1205.66 g/mol，图中可以看出，样品在

1206.68处有主要的出峰。同时，我们可以观察到主峰突出，图谱中的杂峰较少，说明合成产物为纯度较高的目标多肽I9K。



图3-7 质谱图：(a) A3K，(b) A6K及(c) A9K

Fig. 3-7 ESI–MS spectra of(a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K.



图3-8 质谱图：(a) V3K，(b) V6K及(c) V9K

Fig. 3-8 ESI–MS spectra of(a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K.



图3-9 质谱图：(a) I3K，(b) I6K及(c) I9K

Fig. 3-9 ESI–MS spectra of(a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K.

## 3.4 本章小结

通过查阅大量多肽自组装和生物矿化方面文献的研究，本实验设计合成了一系列全部由氨基酸残基组成的两亲性短肽分子XmK，其亲水端是由1个带正电荷的亲水性氨基酸残基Lys组成，疏水端则由3、6和9个疏水性氨基酸残基Ala、Val和Ile组成。我们通过

Fmoc 微波固相合成法合成了所设计的两亲性短肽，并采用反相高效液相色谱及质谱法分析和表征多肽的纯度。高效液相色谱结果表明纯化后多肽分子的纯度均超过95%，质谱结果证明了合成的多肽分子为目标产物，并且在低于及高于其分子量的图谱范围无杂峰出现。因此，通过微波多肽合成仪可以准确、高效地合成出纯度较高的目标短肽分子，能够满足多肽自组装和生物矿化实验所需要纯度的条件。

# 第四章 两亲性短肽的自组装研究

## 4.1 前言

自组装是大自然在亿万年的进化过程中发展起来的一种普遍现象，这是一种从多组份变成单一组份、从无序到有序、从简单到复杂的不断自我修正完善的过程。生命体系中的许多现象包括蛋白质的合成和折叠、DNA的合成及RNA的转录调控均属于自组装过程。许多具有生物学功能的复杂大分子体系均通过自组装过程形成的，甚至有些结构更复杂、更完整的的生命有机体也都是自组装所形成的产物。所以，自组装现象是生命科学最本质的内容之一，也是生命体系中生物分子活动和演变的一种重要过程[[95]](#_bookmark178)。

分子自组装是指一定条件下，分子间通过非共价键的相互作用自发性地形成具有特异性的功能、复杂形态和高度有序微观结构的超分子结构或分子聚集体的过程。该过程一旦开始，能够不受外力影响地自发性进行到某个终点[[99,](#_bookmark182)[180,](#_bookmark247)[181]](#_bookmark248)。广泛存在的分子自组装现象与能量趋于最小化有关。多肽分子自组装主要依靠分子间弱相互作用力（如氢键、离子键、范德华力、静电作用和疏水作用等）的协同作用。虽然这些非共价键的作用力都很弱， 但共同作用可自组装得到形态各异、结构稳定的材料，如纤维状、片状、球状、管状与囊泡等聚集体[[173]](#_bookmark241)。作为生物体活动中普遍存在的一种现象，多肽分子自组装能够在分子水平上的精确设计，从而合成出任何预先设计好的材料，达到对组装体形态及结构严格控制的目的。这在模拟天然生物分子功能、药物载体、合成多肽药物、生物传感与再生医学等领域有着巨大的应用价值，目前已成为物理学、化学、生命科学、材料科学的前沿研究热点[[182-184]](#_bookmark249)。

对于多肽分子的自组装机理，研究学者们根据所研究的不同多肽分子结构和自组装形貌提出了不同的自组装观点和模型。例如，Gazit等[[68]](#_bookmark155)根据苯丙氨酸二肽（FF）自组装形成多肽纳米管的结果，证明了芳香残基的堆积能够在分子识别和自组装成纳米管的过程中扮演着重要角色。Stupp等[[99,](#_bookmark182)[183,](#_bookmark250)[185,](#_bookmark251)[186]](#_bookmark252)近年来也研究报道了多种多肽自组装形成不同结构和形貌的机制。而对于两亲性多肽的自组装机理，通常认为和传统表面活性剂的自组装机制类似，即两亲性多肽分子与水极性分子间的相互吸引和排斥作用，而因为它们的作用力方向一致，使两亲性多肽分子产生定向运动。另一方面，除了疏水力相互作用外，静电排斥作用也存在于多肽的极性亲水基团间，这对于两亲性多肽分子自组装体结构的稳定性发挥着一定的作用。然而，多肽分子结构的多样性和自组装环境的复杂性导致其自组装的机

理还需要深入的系统研究。对两亲性多肽分子自组装进行细致深入的研究是设计分子自组装形成特定形貌的纳米结构和引导其自组装体发展的必要前提。

本实验通过选择有代表性的系列两亲性多肽分子在不同环境下进行自组装研究，利用原子力显微镜（Atomic Force Microscopy, AFM）、圆二色光谱（Circular Dichroism, CD）和傅里叶变换红外光谱（Fourier Transformed Infrared Spectroscopy, FT–IR）表征手段，对多肽分子的自组装体形貌及二级结构进行表征，探讨两亲性多肽分子XmK（X = alanine，

valine和isoleucine；K = lysine; m = 3，6和9）在不同溶液中的自组装机理，从而为两亲性多肽自组装体的应用研究提供理论基础。

## 4.2 实验部分

### 4.2.1 试剂与原料

两亲性系列短肽AmK、VmK和ImK为实验室制备。盐酸（HCl）和氢氧化钠（NaOH）购自汕头西陇化工公司。实验过程所用到的蒸馏水均来自Milli–Q装置（Millipore公司）的超纯水（电导率不低于18.2 MΩcm）。

### 4.2.2 多肽自组装体溶液的配制

根据不同多肽的分子量称取一定量的多肽固体粉末，加入一定量的超纯水溶解并超声助溶，配制成一定浓度的多肽溶液，用稀NaOH溶液或稀HCl调节多肽溶液pH约7，过滤得到澄清溶液，室温静置一周以上以形成稳定的多肽自组装结构。

### 4.2.3 原子力显微镜（AFM）样品表征

AFM是一种利用原子和分子间的相互作用力（如表面张力、范德华力、静电力、万有引力和磁力等）来观察分析被测试物表面微观形貌的表征技术。其工作原理是利用纳米级的锐利探针固定在可灵敏操控的微米级尺度的弹性悬臂上，当探针靠近材料表面时，其顶端的原子与样品表面原子间的作用力（引力和斥力）能使悬臂弯曲，从而偏离原来的位置。

AFM依据扫描样品时探针的偏离量及其它反馈量来重新构建三维图像，可获得测试样品的表面形貌信息。

根据样品和针尖间的接触情况，AFM具有4种扫描模式，包括接触模式（Contact Mode）、轻敲模式（Tapping Mode）、非接触模式（Non–contact Mode）、侧向力（Lateral Force Mode）模式。依据材料表面不同的结构特征、材料特性和不同的研究需要，我们可以选择适合的操作模式。其中，轻敲模式是一种介于接触模式与非接触模式间的操控模式，针尖间断地与样品接触，其微悬臂是振荡的且具有较大的振幅。因为针尖与样品接触，分辩率与接触模式相当，并且由于接触时间比较短暂，可很大程度上降低对被测试样品的损伤，非常合适应用于分析研究柔软、粘附性较强、针尖和脆性的生物分子样品的成像[[187-189](#_bookmark253)]。本实验采用轻敲模式来表征多肽自组装体形貌。本实验使用到的原子力显微镜型号为Nanoscope IIIa Multimode System（美国Digital Instrument公司）。

AFM样品的制备和表征：取20μL XmK多肽自组装体溶液，放置于新鲜准备的云母片上，在室温下吸附约30 s，并用100μL的超纯水冲洗，然后用高纯氮气小心吹干后进行

AFM实验。实验过程中使用TESP型硅探针（Veeco, Santa Barbara, CA），在轻敲模式下进行，运行频率约300 KHz，扫描速率为1 Hz，弹性系数为42 N/m-1，扫描角度为0°，扫描分辨率为512×512。测试结果采用DI公司提供的软件（Version V530r3sr3）分析。

### 4.2.4 圆二色光谱（CD）样品表征

CD是利用偏振光来研究蛋白质、多肽和DNA等生物大分子二级和三级结构的重要工具。通常，熵效应驱动蛋白质的折叠和单体肽链凭借相互作用在特定环境（如特定的温度、pH值等）下自组装，折叠导致亲水基团及疏水基团的分布不同：亲水基团会暴露在分子链的表面，疏水基团则位于分子链的内部。二级结构就是因主链折叠而产生由氢键来维系的规则构象，包括4种常见的空间形态（无规卷曲、α–螺旋、β–折叠及β–转角）。蛋白的圆二色性是由肽键（酰胺键）的相互作用引起的，所以通常用酰胺键的吸收范围（180–250

nm）来测量蛋白质的圆二色光谱。蛋白质二级结构的差异导致其相邻酰胺键有不同的相互作用，其CD特征也不同。圆二色光谱所需要检测量少、灵敏度高、操作简便快捷，且能检测到生物大分子二级或三级结构的微小变化，因此CD在多肽二级结构的分析中具有重要的价值[[190-193]](#_bookmark254)。

CD样品的制备和表征：吸取一定体积的自组装多肽溶液置于石英吸收池（1 mm）中进行CD扫描检测。圆二色光谱实验通过MOS 450（法国Bio–Logic公司）分光偏振仪记

录，测量温度为25±1°C，样品池步长为0.1 cm，扫描范围为180–250 nm，间隔为0.2 nm，积分时间为0.5 s，测试过程使用N2吹扫。扫描超纯水的CD信号作为测试样品的背景信号，实验结果均通过减去该背景信号值来修正。为了提高检测信噪比，实验结果取3次扫描的平均值，并使用仪器附带软件对曲线进行平滑处理，CD信号转化成平均残基椭圆率以[θ]表示，其单位是[deg·cm 2·dmol -1]。

### 4.2.5 傅里叶变换红外光谱（FT–IR）样品表征

目前，对多肽和蛋白质二级结构的常用表征方法因适用范围有限而存在一定的局限性。例如，荧光及紫外光谱法只能检测出蛋白质分子中带有发色团的氨基酸残基；圆二色光谱法只能检测浓度范围很窄的澄清溶液。然而，红外光谱由于每种氨基酸残基均为发色团，能够适用于不同环境、不同浓度和不同状态中蛋白质、多肽的检测。

蛋白质和多肽所对应的酰胺谱带比较复杂，共有酰胺I带、II带及III带三种。酰胺I带主要是C–N键的伸缩振动、C=O键的伸缩振动及N–H键在平面中弯曲；酰胺II带主要是C–N键的伸缩振动、N–H键在平面中的弯曲；酰胺III带主要是C–N键的伸缩振动、N–

H键在平面中弯曲。其中，红外光谱中对酰胺I带谱峰的研究较为成熟：1610–1640 cm-1是β–折叠；1640–1650 cm-1是无规卷曲；1650–1658 cm-1是α-螺旋；1660–1700 cm-1是β-转角[[194-196]](#_bookmark255)。

FT–IR样品的制备和表征：将自组装多肽溶液滴在KBr片上，然后真空干燥12 h形成薄膜。采用Nicolet iS5傅里叶变换红外光谱仪（美国Nicolet公司）在室温下对样品进行表征，检测范围为400–4000 cm-1，扫描次数为128次和采用4 cm-1的分辨率，扣除背景吸收可得到自组装多肽的红外结果。红外数据使用仪器自带的OMNIC软件对酰胺I带（1600–1700 cm-1）进行二级结构分析。

## 4.3 结果与讨论

### 4.3.1 AmK多肽自组装体形貌和二级结构的测定

对AmK多肽自组装体形貌的研究发现，随着多肽疏水端氨基酸残基数量的改变，AmK系列两亲性多肽在水溶液中可成组装成不同形貌及尺寸的纳米材料（如图4-1和图4-2 所

示）：A3K多肽自组装形成片状的薄膜结构，该纳米片状材料的直径为10.4 nm，长度小于100 nm；A6K多肽自组装形成网状的纳米管状结构，该纳米管状材料表现出相当的柔韧性，

但彼此不横向交叉，其直径为2.7 nm，长度为1–2μm；A9K多肽则自组装形成短的纳米棒

状结构，该纳米棒状材料的直径为3–4 nm，长度约为45 nm。此外，我们还可以观察到该自组装体有一些球状胶束和片状结构。



图4-1 AFM表征的多肽自组装结构图：(a) A3K，扫描范围1.75×1.75μm2，Z轴高度8 nm；

（b）A6K，扫描范围2×2μm2，Z轴高度30 nm；(c) A9K，扫描范围1×1μm2，Z轴高度35 nm

Fig. 4-1 AFM height image of the self-assembled structures of(a) A3K with scanning size of 1.75

×1.75μm2 and Z scale of 8 nm, (b) A6K with scanning size of 2×2μm2 and Z scale of 30 nm, and (c) A9K with scanning size of 1×1μm2 and Z scale of 35 nm.

我们通过CD光谱和红外光谱，特别是酰胺I带（1600–1700 cm-1）对多肽二级结构进行了表征。

图4-3为AmK三种多肽在纯水中自组装的CD结果：A3K多肽在200 nm处有一个负峰，说明A3K多肽的二级结构为无规则卷曲；A6K多肽在198 nm处有一个负峰，在230 nm左右出现一个弱的负峰，这表明A6K多肽的二级结构主要是无规则卷曲，并包含少量的β–折叠结构；A9K多肽在201 nm处有一个正峰，在220 nm处有一个负峰，说明A9K多肽自组装形成典型的β–折叠二级结构。因此，CD表征数据表明，AmK系列两亲性短肽的二级结构由无定形向β–折叠结构逐步转变。这可能是因为随着多肽疏水端氨基酸残基数量的增大，其表面活性更强，疏水端的强疏水相互作用力导致疏水端在水溶液中包裹得更为紧密，导致A9K多肽自组装形成β–折叠构象的能力更强。





图4-2 AFM表征的多肽自组装结构高度曲线图：(a) A3K，(b) A6K和(c) A9K Fig. 4-2 Typical height sections of (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K.

图4-3 CD表征的多肽自组装结构图：(a) A3K，(b) A6K和(c) A9K Fig. 4-3 CD spectra of (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K.

图4-4为AmK三种多肽在纯水中自组装后的FT–IR结果：A3K多肽的红外光谱中，

在1638 cm-1左右处有强的吸收峰，表明A3K自组装聚集体以无规则卷曲为主；A6K多肽的红外光谱中，在1636 cm-1附近处有强吸收，表明A6K自组装聚集体以无规则卷曲为主；然而，在A9K多肽自组装体的红外光谱中，在1624 cm-1左右处有强吸收，表明A9K多肽自组装体以β–折叠的构象为主。因此，AmK三种多肽自组装体的构象逐步由无规则卷曲向

β–折叠转变，这与CD对AmK多肽二级结构的表征结果一致。



图4-4 FT–IR表征的多肽自组装结构图：(a) A3K, (b) A6K和(c) A9K Fig. 4-4 FT–IR spectra of (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K.

### 4.3.2 VmK多肽自组装体形貌和二级结构的测定

对VmK多肽自组装体形貌的研究发现，随着多肽疏水端氨基酸残基数量的改变，VmK系列两亲性多肽在水溶液中可成组装成不同形貌及尺寸的纳米材料（如图4-5和图4-6 所

示）：V3K自组装形成短的纳米纤维结构，该纳米纤维材料的直径约为2 nm，长度约为1μm；

V6K自组装形片状的薄膜结构，该纳米片状材料的直径为4 nm，长度小于100 nm; V9K

自组装也形成薄片状纳米材料，其直径为2.5 nm，长度约为40 nm。



图4-5 AFM表征的多肽自组装结构图：(a) V3K，扫描范围3.7×3.7μm2，Z轴高度8 nm；

（b）V6K，扫描范围1.2×1.2μm2，Z轴高度15 nm；(c) V9K，扫描范围1.25×1.25μm2，Z

轴高度35 nm

Fig. 4-5 AFM height image of the self-assembled structures of(a) V3K with scanning size of 3.7

×3.7μm2 and Z scale of 8 nm, (b) V6K with scanning size of 1.2×1.2μm2 and Z scale of 15 nm, and (c) V9K with scanning size of 1.25×1.25μm2 and Z scale of 35 nm.

图4-7为VmK三种多肽在纯水中自组装的CD结果：V3K多肽在203 nm处有一个正峰，在228 nm处有一个负峰，说明V3K多肽的二级结构主要为β–折叠；V6K多肽在208 nm处有一个正峰，在220 nm处有一个负峰，这表明V6K多肽的二级结构是β–折叠结构；V9K多肽在205 nm处有一个正峰，在227 nm处有一个负峰，说明V9K多肽自组装形成典型的

β–折叠二级结构。CD表征数据表明，VmK系列两亲性短肽分子的二级结构均为β–折叠结构。这可能是因为VmK多肽中疏水端氨基酸缬氨酸（V）的疏水性相对于丙氨酸（A）更强，其表面活性更强，疏水端的强疏水相互作用使得疏水端在水溶液中包裹得更紧密，因此，VmK多肽自组装形成β–折叠二级结构的能力更强。





图4-6 AFM表征的多肽自组装结构高度曲线图：(a) V3K，(b) V6K和(c) V9K Fig 4-6 Typical height sections of (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K.

图4-7 CD表征的多肽自组装结构图：(a) V3K，(b) V6K和(c) V9K Fig 4-7 CD spectra of (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K.

为了进一步研究VmK多肽在纯水中自组装后的二级结构，我们对样品进行了FT–IR

分析（图4-8）。在V3K多肽的红外光谱中，在1622 cm-1左右处有强的吸收峰，并且大约在1680 cm-1附近处有一个弱的吸收峰，表明V3K自组装聚集体以β–折叠为主；V6K多肽的红外光谱中，在1622 cm-1附近处有强吸收，而且大约在1681 cm-1附近处有一个弱的吸收峰，表明V6K自组装聚集体以β–折叠为主；在V9K多肽的红外光谱中，在1623 cm-1附近处有强吸收，并且大约在1679 cm-1附近处有一个弱的吸收峰，表明V9K自组装聚集体以β–折叠为主。因此，随着多肽疏水端氨基酸疏水性的增强，VmK系列多肽在溶液中自组装体的构象主要以β–折叠形式存在，这也与CD对其二级结构的表征结果一致。



图4-8 FT–IR表征的多肽自组装结构图：(a) V3K，(b) V6K和(c) V9K Fig. 4-8 FT–IR spectra of (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K.

### 4.3.3 ImK多肽自组装体形貌和二级结构的测定

对ImK多肽自组装体形貌的研究发现，随着多肽疏水端氨基酸残基数量的改变，ImK系列两亲性多肽在水溶液中可成组装成不同形貌及尺寸的纳米材料（如图4-9和图4-10所示）：I3K多肽自组装形成短的纳米管结构，该纳米管状材料的直径约为7.3 nm，长度大于1μm，其表面光滑且尺寸规则；I6K多肽自组装形片状的薄膜结构，该纳米片状材料的直径为11.7 nm，长度约为70 nm。同时，我们还可以观察到该自组装体有一些管状结构存在（如图中箭头所示）；I9K多肽自组装也形成薄片状纳米材料，其直径约为5 nm，长度约为29 nm。因此，随着ImK系列两亲性短肽疏水端长度的增大，其形貌由管状纳米结构逐步转变成片状纳米结构。我们猜测，当两亲性短肽的疏水性增大到一定程度时，其自组装结构的形貌、溶解性和稳定性也会受到一定影响。



图4-9 AFM表征的多肽自组装结构图：(a) I3K，扫描范围1.3×1.3μm2，Z轴高度50 nm；

(b) I6K，扫描范围2×2μm2，Z轴高度70 nm；(c) I9K，扫描范围1.87×1. 87μm2，Z轴高度35 nm

Fig. 4-9 AFM height image of the self-assembled structures of(a) I3K with scanning size of 1.3 ×

1.3μm2 and Z scale of 50 nm, (b) I6K with scanning size of 2×2μm2 and Z scale of 70 nm, and

(C) I9K with scanning size of 1.87×1. 87μm2 and Z scale of 35 nm.

图4-11为ImK三种多肽在纯水中自组装的CD结果：I3K多肽在200 nm处有一个正峰，在220 nm处有一个负峰，说明I3K多肽的二级结构主要为β–折叠；I6K多肽在198 nm处有一个正峰，在220 nm处有一个负峰，这表明I6K多肽的二级结构是β–折叠结构；I9K多肽在198 nm处有一个正峰，在220 nm处有一个负峰，说明I9K多肽自组装形成典型的

β–折叠二级结构。CD表征数据表明，ImK系列两亲性短肽的二级结构均为β–折叠结构。这可能是因为ImK 多肽中疏水端氨基酸异亮氨酸（I）的疏水性相对于丙氨酸（A）和缬氨酸

（V）更强，其表面活性更强，疏水端的强疏水相互作用使得疏水端在水溶液中包裹得更紧密，因此，该系列多肽自组装形成β–折叠的能力也更强。





图4-10 AFM表征的多肽自组装结构高度曲线图：(a) I3K，(b) I6K和(c) I9K Fig. 4-10 Typical height sections of (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K.

图4-11 CD表征的多肽自组装结构图：(a) I3K，(b) I6K和(c) I9K Fig. 4-11 CD spectra of (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K.

我们进一步采用FT–IR对样品进行了表征分析（图4-12），以确认ImK系列多肽在纯

水中自组装后的二级结构情况。I3K多肽的红外光谱中，在1621 cm-1左右处有强吸收，表明I3K自组装体的二级结构以β–折叠为主；I6K多肽的红外光谱中，在1623 cm-1左右处有强吸收，而且在1683 cm-1附近处有一个弱的吸收峰，表示I6K自组装体的二级结构为β–折叠；在I9K多肽的红外光谱中，在1621 cm-1左右处有强吸收，并且在1681 cm-1附近处有一个弱的吸收峰，表明I9K自组装聚集体也以β–折叠为主。因此，ImK系列多肽在溶液中的二级结构均以β–折叠形式存在，这也与CD对其二级结构的表征结果一致。



图4-12 FT–IR表征的多肽自组装结构图：(a) I3K, (b) I6K和(c) I9K Fig. 4-12 FT–IR spectra of (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K.

## 4.4 本章小结

本实验通过AFM、CD和FT–IR检测手段对XmK系列两亲性短肽在纯水中的自组装形貌和二级结构进行表征分析，研究探讨疏水尾部氨基酸残基的数量和类别对两亲性短肽分子自组装形成不同形貌的纳米结构的影响，并提出两亲性短肽分子自组装机理的猜想。具体结论如下：

##### （1）两亲性短肽分子结构对其在纯水中的自组装体形貌有重要影响：随着多肽疏水端氨基酸残基数目的逐步增多，AmK 系列多肽自组装由片状向管状和蠕虫状结构转变；

VmK系列多肽自组装体的形貌由棒状逐步向片状结构转变；ImK系列多肽自组装体的形貌由管状逐步向片状结构转变；

##### （2）AmK系列多肽所形成的二级结构由无规则卷曲向β–折叠转变，而VmK和ImK

系列多肽所形成的二级结构均为β–折叠；

##### （3）两亲性短肽XmK自组装体在形貌和二级结构上的差别来源于多肽自组装驱动力

的不同。AmK系列多肽自组装体的形貌受到疏水作用力影响比较大，疏水端氨基酸残基数目的增多有利于形成表面曲率小的组装体；而VmK和ImK系列多肽自组装中除了受疏水力的作用外，氢键在两亲性短肽自组装体的稳定中发挥着重要作用。

# 第五章 离子对两亲性短肽自组装的影响

## 5.1 前言

近年来，多肽自组装因其良好的生物相容性、结构多样性及在催化化学、材料制备、生物医药等领域中广泛的应用前景而逐步成为研究学者们的研究热点。

多肽分子自组装是在适当条件下，氨基酸残基间能通过非共价键的相互作用，自发性地组合形成的构造稳定、结构明确、具有一定理化性能的超分子结构或分子聚集体。据研究报道，多肽氨基酸的组成和序列对自组装体的构象和结构有重要影响。另外，通过调节多肽分子所处的物理化学环境因素（多肽浓度、pH、温度、离子强度、超声波和电场等），能够通过影响肽自组装过程中的所需非共价键作用而影响肽自组装稳定性，从而有效地调控自组装体的有序结构[[144,](#_bookmark220) [197-200]](#_bookmark256)。

离子作用普遍存在于生物化学领域，生物体也是存在于无机盐离子的环境中。研究表明，离子作用对多肽分子的自组装速度与形貌都有一定的影响[[201-203]](#_bookmark257). Stupp等[[70,](#_bookmark157) [204,](#_bookmark259) [205]](#_bookmark260)设计了由亲水性的多肽链与疏水性烷基链段组成的两亲性多肽，并且系统地研究了此类两亲性多肽分子在不同环境中自组装的形貌转变和多肽分子间作用力、溶液盐离子浓度及溶液

pH值等之间的联系。他们还通过模拟计算的方法绘制出形貌转变的“相图”，说明了在不同溶液环境条件下，两亲性多肽自组装所形成形貌和结构的模型。因此，研究无机离子对多肽自组装结构的影响，有利于我们对两亲性多肽的可控自组装有更深入的认识，为多肽自组装体在材料学和生命科学中的应用提供有用信息。

据此，本实验应用原子力显微镜（Atomic Force Microscopy, AFM）和圆二色光谱

（Circular Dichroism, CD）检测方法，观察和分析不同盐溶液环境对两亲性多肽XmK（X

= alanine, valine和isoleucine；K = lysine; m = 3，6和9）自组装纳米结构的影响，并进一步验证两亲性短肽自组装的机理。

## 5.2 实验部分

### 5.2.1 实验仪器与试剂

表5-1 实验所用的仪器和设备

Table 5-1 Apparatus used in the experiments

| 设备名称 | 设备型号 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| 高灵敏度电子天平 | UMX2 | 瑞士梅特勒－托利多公司 |
| 超声仪 | KQ 218 | 昆ft市超声仪器有限公司 |
| 圆二色谱仪 | MOS 450 | 法国 Bio-Logic 公司 |
| 原子力显微镜 | Multimode Nanoscop IIIa | 美国 Digital Instrument 公司 |

表5-2 实验所用原料和试剂

Table 5-2 Material and solvents used in the experiments

| 试剂名称 | 试剂规格 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| 碳酸钠（Na2CO3） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 硫酸钠（Na2SO4） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 磷酸钠（Na3PO4） | A.R | Sigma-Aldrich |

### 5.2.2 多肽自组装体溶液的配制

称取一定量的两亲性短肽固体粉末（根据不同多肽的分子量计算），加入到50 mM的盐溶液（包括Na2CO3、Na2SO4和Na3PO4溶液）中并超声助溶，配制成一定浓度的多肽溶液，过滤得到澄清溶液，室温静置一周以上以形成稳定的多肽自组装结构。

### 5.2.3 原子力显微镜（AFM）样品表征

取20μL XmK两亲性短肽自组装体溶液，放置于新鲜准备的云母片上，在室温下吸附约30 s，并用100μL的超纯水冲洗，然后用高纯氮气小心吹干后进行AFM实验。实验过程中使用TESP型硅探针（Veeco, Santa Barbara, CA），在轻敲模式下进行，运行频率约300 KHz，扫描速率为1 Hz，弹性系数为42 N/m-1，扫描角度为0°，扫描分辨率为512×512。测试结果采用DI公司提供的软件（Version V530r3sr3）分析。

### 5.2.4 圆二色光谱（CD）样品表征

吸取一定体积的自组装多肽溶液置于石英吸收池（1 mm）中进行CD 扫描检测。圆

二色光谱实验通过MOS 450分光偏振仪记录，测量温度为25±1°C ，样品池步长为0.1 cm，

扫描范围为180–250 nm，间隔为0.2 nm，积分时间为0.5 s，测试过程使用N2吹扫。扫描超纯水的CD信号作为测试样品的背景信号，实验结果均通过减去该背景信号值来修正。为了提高检测信噪比，实验结果取3次扫描的平均值，并使用仪器附带软件对曲线进行平滑处理，CD信号转化成平均残基椭圆率以[θ]表示，其单位是[deg·cm 2·dmol -1]。

## 5.3 结果与讨论

### 5.3.1 离子类型对AmK形成纳米结构的影响

图5-1是通过AFM表征不同离子环境对AmK两亲性多肽的自组装结构的影响。A3K多肽在CO3、SO4和PO4中分别自组装形成片状的纳米结构，如图5-1a、5-1b和5-1c所示。根据其高度曲线图可知（如图5-2a、5-2b和5-2c所示），其直径分别为为3 nm、3.3

2- 2- 3-

nm和10.4 nm。因此，虽然相对于A3K多肽在纯水中的自组装体，A3K多肽在这三种离子中的形貌无明显变化，但发生了一定程度的聚集，形成相对稳定的且粒径更大的聚集体。与A3K多肽相比，A6K在不同离子环境中自组装行为发生较大变化。如图5-1d所示，A6K多肽在CO32-中的自组装形貌变化不大，其纳米管直径（4.5 nm）比纯多肽时（2.7 nm）要大。而A6K多肽在SO4 、PO4 中自组装时表现出较大粘度，发生聚集更为明显。如图5-2

2- 3-

e、5-2f所示，A6K多肽纳米管相互交叉缠绕形成网状结构，其纳米结构的直径分别2.9 nm和3.2 nm. A9K多肽在CO32-、SO4和PO4中的自组装也有类似的聚集趋势（如图5-2g、5-2h和5-2i所示）：A9K多肽在CO32-中保持着很好的纳米短棒结构，其直径为4 nm；当用SO42-和PO4 代替CO3 时，其自组装结构发生聚集，其纳米短棒的直径分别为为3.9 nm和7.9 nm。根据以上结果分析，随着盐溶液的加入，离子对AmK两亲性多肽的非共价键作用力（包括疏水作用力、氢键、静电作用力等）有较大的影响，从而影响多肽自组装的

2- 3-

3- 2-

驱动力以及其自组装结构。

CD对AmK多肽在不同离子中的二级结构表征结果如图5-3所示。A3K在CO32-和SO42-中，其CD谱图在206–208 nm之间有一个负峰，在大约228 nm处有一个的宽负峰，说明其二级结构主要是无规则卷曲，并共存有少量的β–折叠结构；当A3K加入到PO43-中时，

A3K的CD光谱在大约220 nm处有一个的负峰，这与β–折叠的二级结构特征峰相吻合。这可能是因为PO43-使A3K多肽亲水端的屏蔽作用增大，而静电相互作用减少，并导致其

构象发生了一定程度的转变。然而，离子类型的改变对A3K多肽分子头基间的静电相互作用和二级结构产生影响，但对其自组装形成的形貌影响不大（图5-1a、5-1b和5-1c）。A6K多肽在加入不同类型的盐溶液后对A6K的二级结构有较大影响（图5-3b），其自组装二级结构在230 nm处的负峰减弱，说明A6K多肽在无机离子中自组装β–折叠含量减少，形成无规则卷曲二级结构。A6K多肽在溶液中的自组装主要依靠分子间氢键、头基的静电相互作用和尾端的疏水相互作用作为驱动力。当A6K多肽中加入盐溶液后，多肽分子头基的静电相互作用力减小，尽管多肽自组装形貌没有明显变化（图5-1d、5-1e 和5-1f），其对应的二级结构却有一定的改变。然而，A9K多肽在CO32-、SO42-和PO43-中，其CD谱图在201

nm和220 nm分别有一个正峰和负峰（图5-3c），形成以β–折叠为主的二级结构。相对于在纯水中的自组装，A9K多肽形成的二级结构变化小，这与疏水端的相互作用力对该系列多肽自组装形成二级结构的贡献更大有关[[202,](#_bookmark258) [206]](#_bookmark261)。



图5-1 两亲性短肽在不同盐溶液中自组装的AFM图：(a) A3K/Na2CO3，扫描范围1×1μm2，

Z轴高度10 nm；(b) A3K/Na2SO4, 扫描范围840×840 nm2, Z轴高度10 nm；(c) A3K/Na3PO4,

扫描范围2.2×2.2μm2，Z轴高度45 nm；(d) A6K/Na2CO3，扫描范围1.35×1.35μm2，Z

轴高度30 nm；(e) A6K/Na2SO4，扫描范围1.65×1.65μm2，Z轴高度15 nm; (f) A6K/Na3PO4,

扫描范围1.45×1. 45μm2，Z轴高度20 nm；(g) A9K/Na2CO3，扫描范围1.15×1. 15μm2，Z

轴高度20 nm；(h) A9K/Na2SO4，扫描范围1.36×1.36μm2，Z轴高度18 nm; (i) A9K/Na3PO4,

扫描范围2.3×2.3μm2，Z轴高度20 nm

Fig. 5-1 AFM height images of the self-assembled nanostructures in the presence of (a) A3K and sodium carbonate with scanning size is 1×1μm2 and Z scale of 10 nm; (b) A3K and sodium sulfate with scanning size of 840×840 nm 2 and Z scale is 10 nm; (c) A3K and sodium phosphate

With scanning size is 2.2×2.2μm2 and Z scale is 45 nm; (d) A6K and sodium carbonate with scanning size is 1.35×1. 35μm2 and Z scale of 30 nm; (e) A6K and sodium sulfate with scanning size of 1.65×1.65μm2 and Z scale is 15 nm; (f) A6K and sodium phosphate with scanning size is 1.45×1. 45μm2 and Z scale is 20 nm; (g) A9K and sodium carbonate with scanning size is

1.15×1. 15μm2 and Z scale of 20 nm; (h) A9K and sodium sulfate with scanning size of 1.36 ×

1.36μm2 and Z scale is 18 nm; (i) A9K and sodium phosphate with scanning size is 2.3×2.3μm2 and Z scale is 20 nm.



图5-2 AFM表征的多肽自组装结构高度曲线图：(a) A3K/Na2CO3，(b) A3K/Na2SO4，(c) A3K/Na3PO4，(d) A6K/Na2CO3，(e) A6K/Na2SO4，(f) A6K/Na3PO4，(g) A9K/Na2CO3，(h)

A9K/Na2SO4和(i) A9K/Na3PO4

Fig. 5-2 Typical height sections of the self-assembled nanostructures in the presence of (a) A3K/Na2CO3, (b) A3K/Na2SO4, (c) A3K/Na3PO4, (d) A6K/Na2CO3, (e) A6K/Na2SO4, (f) A6K/Na3PO4, (g) A9K/Na2CO3, (h) A9K/Na2SO4, and (i) A9K/Na3PO4.



图5-3 AmK在不同离子中的CD图：(a) A3K/anion, (b) A6K/anion和(i) A9K/anion Fig. 5-3 CD spectra measured from (a) A3K/anion, (b) A6K/anion, and (c) A9K/anion.

### 5.3.2 离子类型对VmK形成纳米结构的影响

图5-4是通过AFM表征不同离子环境对VmK两亲性多肽的自组装结构的影响。图5-4a、5-4b和5-4c是V3K多肽分别在CO32-、SO42-和PO43-中自组装形成棒状的纳米结构。根据其高度曲线图可知（如图5-5a、5-5b和5-5c所示），其直径分别为为2.3 nm、2.5 nm和2.6

nm，其长度（均超过1μm）也大于纯多肽时的长度（1μm）。因此，V3K多肽在这三种离子中发生了聚集，形成相对稳定的且比纯多肽更大的聚集体。与V3K多肽相比，V6K在不同离子环境中自组装行为发生较大变化。如图5-4d和图5-4e所示，V6K多肽在CO32-和SO42-中的自组装形成纤维状的纳米结构，但V6K/CO32-纳米纤维的直径（5.3 nm）比V6K/SO42-

（3.9 nm）要大。V6K多肽在PO43-中自组装时则表现出较大粘度，发生聚集更为明显。如图5-4f所示，V6K多肽纳米纤维相互交叉缠绕，其纳米结构的直径7.5 nm，这意味着V6K多肽在无机离子的作用下由片状纳米结构卷曲成纳米纤维；并且，PO43-比CO32-、SO42-更有利于V6K多肽的轴向生长。而V9K多肽在CO32-、SO42-和PO43-中的自组装保持着较好的纳米片状结构（如图5-4g、5-4h和5-4i所示），其直径分别为2.8 nm、2.9 nm和3.2 nm。因此，相对于在纯水中的V9K多肽纳米结构（直径为2.5 nm），V9K多肽在无机离子中的自组装结构发生聚集，且在PO43-中聚集更为明显。根据以上结果分析，离子对V3K和V6K两亲性短肽的非共价键作用力的影响比V9K多肽更大，这可能是因为随着疏水端长度的增加，两亲性短肽对离子的稳定性也增加。



图5-4 两亲性短肽在不同盐溶液中自组装的AFM图：(a) V3K/Na2CO3，扫描范围3×3μm2，

Z轴高度8 nm；(b) V3K/Na2SO4，扫描范围3.8×3.8μm2，Z轴高度10 nm; (c) A3K/Na3PO4,

扫描范围4.2×4.2μm2，Z轴高度16 nm；(d) V6K/Na2CO3，扫描范围1.5×1.5μm2，Z 轴

高度20 nm；(e) V6K/Na2SO4，扫描范围2.1×2.1μm2，Z轴高度25 nm; (f) V6K/Na3PO4,

扫描范围1×1μm2，Z轴高度40 nm；(g) V9K/Na2CO3，扫描范围2.4×2.4μm2，Z轴高度

8 nm；(h) V9K/Na2SO4，扫描范围1.15×1. 15μm2，Z轴高度12 nm；(i) V9K/Na3PO4，扫描

范围3×3μm2，Z轴高度20 nm

Fig. 5-4 AFM height images of the self-assembled nanostructures in the presence of (a) V3K and sodium carbonate with scanning size is 3×3μm2 and Z scale of 8 nm; (b) V3K and sodium sulfate with scanning size of 3.8×3.8μm2 and Z scale is 10 nm; (c) V3K and sodium phosphate

With scanning size is 4.2×4.2μm2 and Z scale is 16 nm; (d) V6K and sodium carbonate with Scanning size is 1.5×1.5μm2 and Z scale is 20 nm; (e) V6K and sodium sulfate with scanning size is 2.1×2.1μm2 and Z scale is 25 nm; (f) V6K and sodium phosphate with scanning size is 1

×1μm2 and Z scale is 40 nm; (g) V9K and sodium carbonate with scanning size is 2.4×2.4

μm2 and Z scale of 8 nm; (h) V9K and sodium sulfate with scanning size of 1.15×1.1 5μm2 and Z scale is 12 nm; (i) V9K and sodium phosphate with scanning size is 3×3μm2 and Z scale is 20 nm.



图5-5 AFM表征的多肽自组装结构高度曲线图：(a) V3K/Na2CO3, (b) V3K/Na2SO4, (c) V3K/Na3PO4, (d) V6K/Na2CO3, (e) V6K/Na2SO4, (f) V6K/Na3PO4, (g) V9K/Na2CO3, (h)

V9K/Na2SO4和(i) V9K/Na3PO4

Fig. 5-5 Typical height sections of the self-assembled nanostructures in the presence of (a) V3K/Na2CO3, (b) V3K/Na2SO4, (c) V3K/Na3PO4, (d) V6K/Na2CO3, (e) V6K/Na2SO4, (f) V6K/Na3PO4, (g) V9K/Na2CO3, (h) V9K/Na2SO4, and (i) V9K/Na3PO4.

CD对VmK多肽在不同离子中的二级结构表征结果如图5-6所示。V3K多肽在CO32-、SO42-和PO43-中，其CD谱图在203 nm处的正峰强度减弱，在225–226 nm之间有一个负峰，说明其二级结构主要是β–折叠结构，并且V3K/PO43-β–折叠二级结构的强度最大。尽

管离子类型的改变对其自组装形成的形貌影响不大，但对V3K多肽分子头基间的静电相互作用和二级结构产生一定影响。当V6K多肽加入到盐溶液中时，V6K多肽的CD光谱在大约204–206 nm处有一个正峰，在222 nm处有一个的负峰，推断V6K多肽在不同的离子中自组装的二级结构仍然以β–折叠为主。但其自组装二级结构在222 nm处的负峰减弱，说明V6K多肽在无机离子的自组装过程中，其二级结构中的氢键可能受到一定程度上的破坏，导致V6K多肽自组装形貌也发生了明显变化（图5-4d、5-4e和5-4f）。然而，V9K多肽相对于在纯水中的自组装，V9K 多肽在CO32-、SO42-和PO43-中形成的二级结构变化小：其

CD谱图在205 nm和227 nm分别有一个正峰和负峰（图5-6c），形成以β–折叠为主的二级结构。结合V9K多肽在离子中自组装的形貌（图5-4g、5-4h和5-4i）分析，其分子的粒径比纯多肽时增大，但仍保持片状结构，这说明疏水端的相互作用力对V9K多肽自组装形成二级结构的作用力更强。



图5-6 VmK在不同离子中的CD图：(a) V3K/anion, (b) V6K/anion和(i) V9K/anion Fig. 5-6 CD spectra measured from (a) V3K/anion, (b) V6K/anion, and (c) V9K/anion.

### 5.3.3 离子类型对ImK形成纳米结构的影响

图5-7是通过AFM表征不同离子环境对ImK两亲性多肽的自组装结构的影响。图5-7a、5-7b和5-7c是I3K多肽分别在CO32-、SO42-和PO43-中自组装形成片状的纳米结构。根据其高度曲线图可知（如图5-8a、5-8b和5-8c所示），其直径分别为8.6 nm、8.8 nm和8.5 nm。因此，相对于纯多肽（直径为7.3 nm），I3K多肽在这三种离子中发生了聚集的现象不明显，这与I3K多肽自组装形成稳定的聚集体有关。猜测在I3K多肽的盐溶液中，静电相互作用力、分子间氢键和疏水相互作用力彼此协调共同作用形成多肽聚集体，各种相互作用力彼此达到一个平衡值，从而保证了I3K多肽能够自组装形成稳定的纳米结构。而随着疏水端

氨基酸数量的增大，I6K多肽在在CO32-、SO42-和PO4 中自组装行为发生较大变化（如图

3-

5-7d、5-7e和5-7f所示）。I6K多肽在CO32-中的自组装形成较细的纳米管结构（直径为1.8

nm），但其表面较为粗糙；I6K多肽在SO42-和PO43-中自组装，发生聚集更为明显，形成了粒径更大的纳米管直径分别为（2.0 nm和3.2 nm），并且表面光滑。这意味着I6K多肽在无机离子的作用下由片状纳米材料发生聚集，进一步组装成纳米管，以使到体系能量降低；同时可以发现，I6K多肽在PO 3-中相对于CO 2-、SO 2-更有利于聚集的发生。而I K多肽

4 3 4 9

在CO32-、SO42-和PO43-中的自组装也有类似的现象（如图5-7g、5-7h和5-7i所示），但有所区别：I9K多肽在CO32-中仍然保持片状纳米结构，其直径为8.3 nm；当用SO42-代替CO32-时，自组装体系主要形成纳米片和纳米管共存结构（如箭头所示），其中以纳米片状结构

（直径为4.3 nm）居多；而当I9K多肽在PO43-中自组装时，形成了较为光滑的纳米管，直径为2.3 nm。因此，相对于在纯水中的I9K多肽片状纳米结构，I9K多肽在无机离子中的自组装结构发生聚集，且在PO43-中聚集更有利于管状结构的形成。通过以上实验结果可以推测，I3K多肽自组装形成的纳米结构非常稳定，不容易有形貌的变化，而I6K和I9K两亲性多肽在水溶液中的溶解度下降，自组装形成的纳米结构在盐溶液中不太稳定，无机离子对I6K和I9K两种多肽的非共价键作用力的影响要比I3K多肽大。这提示除疏水作用和静

电作用外，氢键可能对两亲性短肽自组装驱动力和结构有强作用[[202,](#_bookmark258) [207]](#_bookmark262)。因此，I3K多肽在无机离子中仍然能够形成规则、光滑的纳米管，且自组装结构有较高的稳定性。



图5-7两亲性短肽在不同盐溶液中自组装的AFM图：(a) I3K/Na2CO3，扫描范围1.8×1.8

μm2，Z轴高度40 nm；(b) I3K/Na2SO4, 扫描范围1.3×1.3μm2，Z轴高度45 nm；(c) I3K/Na3PO4,

扫描范围2×2μm2，Z轴高度45 nm；(d) I6K/Na2CO3，扫描范围1.3×1. 3μm2，Z轴高度

12 nm；(e) I6K/Na2SO4，扫描范围1.2×1.2μm2，Z轴高度14 nm；(f) I6K/Na3PO4，扫描范

围1.7×1.7μm2，Z轴高度20 nm；(g) I9K/Na2CO3，扫描范围4×4μm2，Z轴高度35 nm；

（h）I9K/Na2SO4，扫描范围1×1μm2，Z轴高度30 nm；(i) I9K/Na3PO4，扫描范围2×2μm2，

Z轴高度12 nm

Fig. 5-7 AFM height images of the self-assembled nanostructures in the presence of(a) I3K and sodium carbonate with scanning size is 1.8×1.8μm2 and Z scale of 40 nm; (b) I3K and sodium

Sulfate with scanning size of 1.3×1.3μm2 and Z scale is 25 nm; (c) I3K and sodium phosphate with scanning size is 2.2×2.2μm2 and Z scale is 20 nm; (d) I6K and sodium carbonate with Scanning size is 1.3×1. 3μm2 and Z scale is 12 nm; (e) I6K and sodium sulfate with scanning size is 1.2×1.2μm2 and Z scale is 14 nm; (f) I6K and sodium phosphate with scanning size is

1.7×1.7μm2 and Z scale is 20 nm; (g) I9K and sodium carbonate with scanning size is 4× 4

μm2 and Z scale of 35 nm; (h) I9K and sodium sulfate with scanning size of 1×1μm2 and Z scale is 30 nm; (i) I9K and sodium phosphate with scanning size is 2×2μm2 and Z scale is 12 nm.



图5-8 AFM表征的多肽自组装结构高度曲线图：(a) I3K/Na2CO3, (b) I3K/Na2SO4, (c) I3K/Na3PO4, (d) I6K/Na2CO3, (e) I6K/Na2SO4, (f) I6K/Na3PO4, (g) I9K/Na2CO3, (h) I9K/Na2SO4和(i) I9K/Na3PO4

Fig. 5-8 Typical height sections of the self-assembled nanostructures in the presence of (a) I3K/Na2CO3, (b) I3K/Na2SO4, (c) I3K/Na3PO4, (d) I6K/Na2CO3, (e) I6K/Na2SO4, (f) I6K/Na3PO4,

(G) I9K/Na2CO3, (h) I9K/Na2SO4, and (i) I9K/Na3PO4.

我们采用CD表征了ImK多肽在不同盐溶液中的二级结构信息，如图5-9所示。I3K多肽在CO32-和SO42-的二级结构相差不大，其CD谱图在222 nm和225 nm各有一个负峰，

说明其二级结构主要是β–折叠结构；I3K多肽在PO43-的二级结构在201 nm处有一个强的正峰，在216 nm处有一个负峰，说明I3K/PO43-也形成β–折叠二级结构，且其β–折叠含量较高。尽管离子类型的转变对自组装体形貌的影响不大，但对I3K多肽头基间的静电相互作用及二级结构有一定程度的影响。I6K多肽在盐溶液中CD谱图在198 nm处的β–折叠特征峰红移至202 nm，而220 nm处的负峰红移至228–232 nm，并且正峰与负峰的强度减弱。结合I6K多肽在不同离子中的自组装形貌变化（图5-7d、5-7e和5-7f）推断，β–折叠含量的增加会降低I6K多肽的机械强度[[208]](#_bookmark263)。I9K多肽在CO32-、SO4和PO4中自组装也有类似的二级结构变化：其CD谱图在198 nm处的β–折叠特征峰红移至205 nm, 220 nm处的负峰红移至230–232 nm，形成以β–折叠为主的二级结构。结合I9K多肽在离子中自组装的形貌（图5-7g、5-7h和5-7i）分析，其自组装体形貌逐步转变成纳米管，但仍保持β–折叠二级结构，这说明疏水端的相互作用力对I9K多肽自组装形成二级结构的作用力更强。

2- 3-



图5-9 ImK在不同离子中的CD图：(a) I3K/anion, (b) I6K/anion和(i) I9K/anion Fig 5-9 CD spectra measured from (a) I3K/anion, (b) I6K/anion, and (c) I9K/anion.

## 5.4 本章小结

本实验通过考察不同离子类型（CO32-、SO4和PO4）对两亲性系列短肽XmK自组装形成纳米材料形貌的影响，得出以下结论：

2- 3-

（1）两亲性多肽分子自组装是通过多肽分子链间的氢键、头基的静电作用以及尾部的疏水作用彼此协调完成的，这些作用力共同构筑多肽自组装纳米结构。当多肽自组装体所在溶液的环境改变，会打破这三种多肽分子间非共价键作用力的平衡，进而影响其自组装纳米结构；

（2）随着离子类型的改变，AmK和VmK系列两亲性短肽在无机离子中的自组装发生了明显聚集，其尺寸比在纯水中的自组装结构更大，A9K和V9K自组装的堆叠结构更加紧密。这意味着AmK和VmK多肽在离子类型的改变中，多肽疏水尾部的相互作用力发挥重要作用。随着多肽疏水性的增加，ImK系列两亲性短肽自组装结构表现出不同的稳定性：

I3K多肽在CO32-、SO42-和PO43-中仍然保持形成规则、光滑的纳米管，且粒径无明显变化，而I6K和I9K多肽在三种无机离子中由纳米片状结构转变成纳米管。以上结果可能提示，虽然两亲性短肽尾部的疏水作用力在其自组装结构的稳定性中发挥着主要作用，但当多肽的疏水性进一步增强时，会打破原来自组装体系中亲水端和疏水端的平衡，氢键作用减弱，因而自组装结构容易受环境的影响。不同的无机离子会从侧面屏蔽多肽头基间的静电相互作用力，多肽自组装形成的纳米结构能够发生不同程度的改变。

# 第六章 两亲性短肽介导合成形貌可控的二氧化硅

## 6.1 前言

生物体在温和条件下，利用生物大分子为有机基质，经过分子预组装、界面分子识别、生长调制与细胞加工等过程合成出结构复杂和功能特殊的复合材料，如牙齿、骨骼、贝壳和珊瑚等。虽然某些生物矿化材料的组成与结晶方式跟普通矿物基本相同，但生物矿化的晶体尺寸、结构、形态和结晶取向由于受控于局部条件的调控，因而具有常规材料无可比拟的优良性能，例如优异的界面性质、极高的强度、精细的结构和特殊的光/电/磁性能。仿生合成是利用生物矿化原理发展起来的一种新型无机材料合成方法。和传统化学合成无机材料的方法比较，仿生合成能够在温和条件下反应，避免了传统化学合成法的强酸、强碱、高温高压等极端条件；而且，通过仿生合成过程中有机大分子的模板调控，能够精确控制无机离子的成核生长和加工合成出结构精美、性能优良的有机–无机复合材料[[3,](#_bookmark111)[13,](#_bookmark118)[73,](#_bookmark160)

[209]](#_bookmark264). 通过调控矿化条件来控制生物无机材料的晶型、取向、尺寸和形状等，在催化分离、

陶瓷、薄膜及药物的控制释放等领域有重要应用价值，现已成为物理学、生命科学和材料化学等学科中很活跃的一个研究领域。

在仿生合成过程中，有机大分子首先通过非共价键（如范德华力、氢键、疏水作用力和静电作用力）的弱相互作用形成自组装聚集体，然后无机前驱物与自组装体在溶液相界面处，通过自组装体模板的调控作用发生“化学反应”形成有机–无机复合物，最后去除有机大分子模板即能得到具有特定形状、特殊功能的无机材料[[210]](#_bookmark265)。所以，生物有机模板发挥着最为关键的作用，如何巧妙选择有机模板在是合成特定结构、优良性能无机材料的前提。根据仿生矿化合成中模板本身的特点和限域能力，用作仿生合成的有机模板通常可分为硬模板和软模板两大种类。前者包括天然模板和人工合成模板，后者则包括生物分子、高分子的自组织结构、两亲性分子自组装形成的各种有序聚合物等。由于软膜板法具有操作方便、成本低廉和方法简单等优点而引起了科学家们的广泛兴趣[[211]](#_bookmark266)。多糖、酶、DNA、蛋白质和多肽等作为有机模板已广泛应用于无机材料的仿生合成研究[[4,](#_bookmark112) [212-214]](#_bookmark267)。其中，多肽分子作为连接蛋白质大分子与有机小分子间的一个重要部分，由于结构的稳定性、可加工性及易修饰性，使其很适合作为有机模板研究与无机晶体的相互作用[[182,](#_bookmark249) [215]](#_bookmark268)。和其它有机模板相比，两亲性短肽分子作模板应用于仿生合成时有很多优点[[83,](#_bookmark170) [216,](#_bookmark269) [217]](#_bookmark270)：（1）分子结构由氨基酸残基组成，具有很好的生物相容性；（2）相比于线性的多肽分子，两亲性短肽分

子的自组装体具有更加稳定的超分子结构；（3）通过在分子结构中接上有矿化功能的氨基酸残基，具有丰富的组装驱动力，能够在温和条件下进行仿生合成；（4）与长链多肽相比，两亲性短肽分子由于氨基酸残基数目的减少，降低模板合成的难度和成本，有利于工业上的大规模合成；（5）多肽分子的长度、亲疏水部分的属性容易改造，有利于获得仿生合成需要的自组装体结构。因此，两亲性短肽分子可以成为仿生合成中极为理想的有机模板。

生物体系内的矿化过程除了受到有机大分子模板调控的同时，也会受到其它物理化学的影响，如外力场、浓度、pH值、温度和离子强度等[[73,](#_bookmark160) [84,](#_bookmark171) [218,](#_bookmark271) [219]](#_bookmark272)。本实验提出两亲性短肽诱导二氧化硅仿生合成的研究理念：在常温常压、中性pH值条件下，以两亲性短肽XmK

（X = alanine, valine和isoleucine; K = lysine; m = 3, 6和9）自组装体作为有机模板，利用多肽自组装体表面功能基团的介导作用和催化能力，调控无机矿物在自组装体表面的生长，仿生合成出形貌可控的二氧化硅材料，并通过考察多肽分子结构、离子及外力场对材料形貌的影响，进而探讨两亲性短肽XmK介导二氧化硅矿化的机理。

## 6.2 实验部分

### 6.2.1 实验仪器与试剂

表6-1 实验所用的仪器和设备

Table 6-1 Apparatus used in the experiments

| 设备名称 | 设备型号 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| 高灵敏度电子天平 | UMX2 | 瑞士梅特勒–托利多公司 |
| 精密 pH 计 | PHS–2C | 上海康仪仪器有限公司 |
| 台式高速离心机 | TG15M | 长沙平凡仪器仪表有限公司 |
| 超声仪 | KQ 218 | 昆ft市超声仪器有限公司 |
| 直流稳压电源 | YB 1732A 3A | 江苏扬中市绿扬电子厂 |
| 扫描电子显微镜 | JSM–6360LA | 日本电子株式会社 |
| 透射电子显微镜 | JEM–1400 | 日本电子株式会社 |
| 综合热分析仪 | TA–50H | 日本岛津公司 |
| 圆二色谱仪 | MOS 450 | 法国 Bio–Logic 公司 |
| 傅立叶变换红外光谱仪 | Nicolet iS5 | 美国 Nicolet 公司 |

表6-2 实验所用原料和试剂

Table 6-2 Material and solvents used in the experiments

| 试剂名称 | 试剂规格 | 生产厂家 |
| --- | --- | --- |
| 正硅酸乙酯（TEOS） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 碳酸钠（Na2CO3） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 硫酸钠（Na2SO4） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 磷酸钠（Na3PO4） | A.R | Sigma-Aldrich |
| 盐酸（HCl） | A.R | 汕头西陇化工公司 |

### 6.2.2 实验方法

#### 6.2.2.1 多肽自组装溶液的制备

根据两亲性短肽分子量称取一定质量的多肽粉末，加入到50 mM 的盐溶液（包括

Na2CO3、Na2SO4和Na3PO4）中并超声助溶，配制成一定浓度的多肽溶液，过滤后得到澄清溶液，室温下静置一周以上以形成稳定的多肽自组装结构。

#### 6.2.2.2 新鲜硅酸溶液的配制

取200μL的正硅酸乙酯加入1.5 ml HCl中，振荡、摇匀，然后在100 W功率条件下超声15 min，得到新鲜的硅酸，备用。

#### 6.2.2.3 两亲性短肽在温和条件下介导二氧化硅的仿Th合成

量取一定体积的XmK两亲性短肽在离子（CO32-、SO42-和PO43-）中的自组装溶液作为有机模板，加入一定量的新鲜的硅酸溶液作为硅前驱体，快速振荡、混匀后，在室温下静止放置一定时间。矿化反应完成后，取矿化溶液离心（14000 rpm, 10 min）3次得白色固体，然后分别用超纯水和乙醇各洗涤3次，以除去残留的的硅酸和多肽。矿化产物在空气中自然干燥，利用扫描电子显微镜（Scanning Electron Microscopy, SEM）和透射电子显微镜（Transmission Electron Microscopy, TEM）进行形貌表征。同时，以圆二色谱仪（Circular

Dichroism，CD）和傅里叶变换红外光谱（Fourier Transformed Infrared Spectroscopy，FT–

IR）观察两亲性短肽的二级结构在生物矿化前后的变化信息。

#### 6.2.2.4 两亲性短肽在电场条件下介导二氧化硅的仿Th合成

XmK两亲性短肽在电场条件下仿生合成二氧化硅材料的实验采用本实验室自制的装置，其示意图如图6-1所示。电场装置中以铜片（10 mm×20 mm×1 mm）为正极，导电玻璃（indium tin oxide, ITO; 10 mm×20 mm×1 mm）为负极，正、负极板间的距离为 1

cm。同时，为了便于研究电场对二氧化硅材料矿化的影响，矿化体系统一选用PO43-作为添加离子。将一定体积的两亲性短肽在PO43-自组装溶液加入电场装置中，并通上4 V强度的电压。待两亲性短肽自组装溶液在电场条件下附着在ITO负极板1-2 min使其形成匀强电场。撤离电场后，滴入一定量新制的硅酸溶液。待矿化反应2 h后，将矿化反应所产生的沉淀转移到离心管中离心（14000 rpm, 10 min）三次得白色固体，然后分别用超纯水和乙醇清洗三次。矿化产物在空气中自然干燥，利用SEM进行形貌表征。



图6-1 电场实验装置示意图

Fig. 6-1 Schematic diagram of the electric field experimental facility.

## 6.3 实验结果与讨论

### 6.3.1 两亲性短肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅的研究

保持其他理化条件不变，本实验在温和条件下通过选取三种离子CO32-、SO42-和PO43-分别用于XmK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料，考察离子类型、多肽类型及多肽链长度对两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料形貌的影响。

#### 6.3.1.1 AmK多肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅材料

图6-2表示在温和条件下，离子的类型对AmK多肽介导合成二氧化硅材料的影响。

A3K多肽在CO32-体系中，主要介导合成球状结构的二氧化硅材料（如图6-2a所示），但从图中还可以观察有许多片状结构的二氧化硅共存；而当溶液体系改为在SO42-和PO43-体系中时，A3K多肽能够仿生合成出形貌规整、尺寸均一的球状二氧化硅材料，其粒径约800 nm

（如图6-2b和图6-2c）。然而，当多肽疏水端氨基酸数量增大时，我们可以观察到A6K多肽介导合成二氧化硅材料的形貌有明显改变。如图6-2d所示，A6K多肽在CO32-体系中，介导合成出花瓣状的二氧化硅材料，并且该材料是由大量排列密集、尺寸规整、层次分明和表面光滑的薄片状结构所组成；A6K多肽在SO42-和PO43-体系中则介导合成出纤维状的二氧化硅材料（如图6-2e和图6-2f），其中A6K/PO43-体系介导合成的二氧化硅材料长度（10μm）比A6K/SO42-体系的二氧化硅材料（5μm）更长，并且排列更紧密，这可能与PO43-

的驱动力比SO42-更强有关。当多肽疏水端氨基酸数量继续增大时，我们可以观察到A9K多肽在CO32-和SO42-体系中介导合成的是纤维状二氧化硅材料（如图6-2g和图6-2h），其长度为3-5μm，同时也发现所形成的二氧化硅材料的外表面比较粗糙，外壁有部分无规产物的形成。而A9K/PO43-体系中介导合成的是较光滑的棒状二氧化硅材料（图6-2i），其粒径约为420 nm，长度约为3.2μm。我们猜测这是由于在A9K/CO32-和A9K/SO42-体系中的介导、催化硅酸的能力比A9K/PO43-要弱有关。Li等[[54]](#_bookmark145)利用KL两嵌段多肽聚合物作为有机模板介导二氧化硅材料的合成时，也发现了离子的类型对于多肽二级结构和二氧化硅形貌有重要影响。以上实验结果证明，离子强度、多肽类型及疏水端长度对双亲多肽介导的二氧化硅材料的形貌具有重大的影响。



图6-2 温和条件下，AmK多肽在不同离子中介导合成二氧化硅的SEM图：(a) A3K/Na2CO3，

(B) A3K/Na2SO4, (c) A3K/Na3PO4, (d) A6K/Na2CO3, (e) A6K/Na2SO4, (f) A6K/Na3PO4, (g) A9K/Na2CO3, (h) A9K/Na2SO4和(i) A9K/Na3PO4

Fig. 6-2 SEM images of silica directed by(a) A3K/Na2CO3, (b) A3K/Na2SO4, (c) A3K/Na3PO4, (d) A6K/Na2CO3, (e) A6K/Na2SO4, (f) A6K/Na3PO4, (g) A9K/Na2CO3, (h) A9K/Na2SO4, and (i)

A9K/Na3PO4 under ambient conditions.

为了研究不同离子强度及类型对AmK多肽在矿化过程中的影响，我们利用CD对多肽自组装体在矿化后的二级结构进行了表征（图6-3）。如图6-3a所示，A3K多肽在CO32-、SO42-和PO43-三种离子矿化后的二级结构有明显区别：A3K多肽在CO32-介导合成二氧化硅材料时，其CD数据在205 nm处有一个负峰，表明其二级结构为无规卷曲；而A3K多肽在SO42-的矿化体系中，会在202 nm附近出现一个强的负峰，在226 nm处出现一个弱的负峰，这表明该体系主要为无规卷曲结构，并包含有少量的β–折叠结构；A3K多肽在PO43-的矿化体系中负峰的强度则不同，其CD数据在203 nm处有一个弱的负峰，在220 nm处出现一个强的负峰，这表明A3K多肽在PO43-的矿化体系中自组装大部分形成了β–折叠结构，并共存有少量的无规卷曲结构。当多肽疏水端氨基酸长度增大时，我们可以观察到A6K

多肽和A9K多肽在不同离子中介导合成二氧化硅材料的二级结构则较为统一（如图6-3b和图6-3c所示）。A6K多肽矿化体系的二级结构在196–198 nm处有一个负峰，表明其二级结构为无规卷曲；而A9K多肽矿化体系的二级结构在203 nm附近有一个正峰，在220 nm处出现一个弱的负峰，所以其二级结构为典型的β–折叠结构。以上数据表明，A3K多肽在二氧化硅的矿化体系中的二级结构比A6K和A9K两种多肽容易受到离子的影响。这与多肽疏水端氨基酸残基数量的越多，多肽疏水端在水溶液中包裹得越紧密有关。因此，结合

到SEM实验结果，离子类型和强度能够通过影响多肽的二级结构、与硅酸的聚合能力，进而影响二氧化硅材料的形貌。同时，我们可以通过调节矿化体系的离子类型和多肽疏水端的链长来调控二氧化硅材料的形貌。



图6-3温和条件下，AmK多肽在不同离子中介导合成二氧化硅的CD图：(a) A3K/anion, （b）

A6K/anion和(c) A9K/anion

Fig. 6-3 CD spectra of the silicification system of (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K in the presence of different sodium salts under ambient conditions.

#### 6.3.1.2 VmK多肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅材料

图6-4表示温和条件下，VmK多肽不同类型的离子仿生合成二氧化硅材料。V3K多肽在CO32-和SO42-体系中主要介导合成棒状结构的二氧化硅材料（如图6-4a和图6-4b所示），其中V3K/CO32-体系介导合成二氧化硅材料的尺寸（粒径约180 nm，长度约580 nm）比

V3K/SO42-体系的（粒径约120 nm，长度约500 nm）更大；而当溶液体系改为在PO43-体系中时，V3K多肽能够仿生合成出的带状二氧化硅材料，其长度超过3.2 μm（如图6-4c）。然而，随着多肽疏水端氨基酸长度的增加，我们可以观察到V6K多肽介导合成二氧化硅材料的形貌及尺寸均有明显变化。如图6-4d所示，V6K多肽在CO32-体系中介导合成出纤维状的二氧化硅材料，其长度超过10 μm；V6K多肽在SO42-和PO43-体系中则介导合成出片

状的二氧化硅材料（如图6-4e和图6-4f），其中V6K/SO4 体系的二氧化硅材料长度（7μm）比V6K/PO4体系介导合成的二氧化硅材料（3μm）更长。V9K多肽在不同的离子体系中介导合成二氧化硅材料的尺寸逐渐增大：V9K多肽在CO32-体系中介导合成出形貌规整的棒状二氧化硅材料，其粒径约220 nm，长度约1.1 μm（如图6-4i）；而V9K多肽在SO42-和PO43-体系中均介导合成出带状二氧化硅材料，并且虽然两个体系合成产物的粒径差别不大（约为160 nm），但V9K/PO4 体系介导合成的二氧化硅材料比V6K/SO4 体系的长度更长

2-

3-

3- 2-

（如图6-4h和图6-4i）。以上实验结果表明，相对于AmK多肽，VmK多肽在介导二氧化硅材料的矿化过程中更倾向于侧向成核，我们猜测这是由于Val（V）比Ala（A）的疏水性更强；并且，随着与硅酸形成氢键强度由CO3向SO4和PO4 的增大，VmK多肽介导生成二氧化硅材料的形貌也由棒状向纤维状和带状转变。

2- 2- 3-



图6-4温和条件下，VmK多肽在不同离子中介导合成二氧化硅的SEM图：(a) V3K/Na2CO3，

(B) V3K/Na2SO4, (c) V3K/Na3PO4, (d) V6K/Na2CO3, (e) V6K/Na2SO4, (f) V6K/Na3PO4, (g) V9K/Na2CO3, (h) V9K/Na2SO4和(i) V9K/Na3PO4

Fig. 6-4 SEM images of silica directed by (a) V3K/Na2CO3, (b) V3K/Na2SO4, (c) V3K/Na3PO4,

(D) V6K/Na2CO3, (e) V6K/Na2SO4, (f) V6K/Na3PO4, (g) V9K/Na2CO3, (h) V9K/Na2SO4, and (i) V9K/Na3PO4 under ambient conditions.

图6-5表示VmK多肽自组装体在不同离子环境中进行二氧化硅矿化后的二级结构。如图6-5a所示，V3K多肽在CO32-、SO42-和PO4 三种离子矿化前后的二级结构有无明显区别，其CD数据在222–225 nm处有一个负峰，表明其二级结构均为β–折叠结构。当多肽疏水端氨基酸长度增大时，我们可以观察到V6K多肽和V9K多肽在不同离子中介导合成二氧化硅材料时也有类似的二级结构（如图6-5b和图6-5c所示）：V6K多肽矿化体系的二级结构会在204 nm附近处有一个正峰，在220 nm处有一个负峰；V9K多肽矿化体系的二级结构在203–206 nm有一个正峰，在228–230 nm处有一个负峰，所以其二级结构均为β–折叠结构。以上实验结果表明，VmK多肽在矿化前后的二级结构变化不大，其构象不易受到离子和硅酸加入的影响。此外，这也证明了VmK多肽相对于AmK多肽介导合成的材料更倾向生成棒状、纤维状和带状结构。

3-



图6-5温和条件下，VmK多肽在不同离子中介导合成二氧化硅的CD图：(a) V3K/anion, （b）

V6K/anion和(c) V9K/anion

Fig. 6-5 CD spectra of the silicification system of (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K in the presence of different sodium salts under ambient conditions.

#### 6.3.1.3 ImK多肽在温和条件下仿Th合成二氧化硅材料

温和条件下，ImK多肽CO32-、SO42 -和PO43-中仿生合成二氧化硅材料的形貌如图6-6表示。很有趣的是，I3K多肽在不同离子体系中介导合成非常类似的网状二氧化硅材料（如图6-6a、图6-6b和图6-6c所示），并且该材料是由大量排列密集、尺寸规整和表面光滑的管状结构所组成。同时，我们采用TEM表征技术以比较矿化前后的变化信息以及获得更高分辨率的图片。如图6-7所示，我们可以观察到I3K多肽在二氧化硅材料矿化前后的形貌和管径（粒径约为24 nm）均变化不大，这表明在I3K多肽自组装体有较强的稳定性；并且，在多肽自组装体表面功能基团的介导下，硅酸离子通过静电作用直接在多肽自组装

体表面有序沉积。然而，随着多肽疏水端氨基酸长度的增加，我们可以观察到I6K多肽和

I9K多肽介导合成二氧化硅材料形貌和尺寸均有明显变化。I6K多肽在CO3体系中介导合成出棒状的二氧化硅材料（图6-6d），其粒径约为82 nm，长度约为560 nm；I6K多肽在SO42-体系中也介导合成出棒状的二氧化硅材料，其尺寸（粒径约为105 nm，长度约为1.2μm）则有所增大；而当溶液体系改为在PO43-体系中时，I6K多肽仿生合成出尺寸更大的棒状二氧化硅材料，其粒径约为120 nm，长度约为2.5 μm（如图6-6e）。类似地，I9K多肽在不同的离子体系中介导合成出棒状的二氧化硅材料，其尺寸也由CO32-（粒径约为68 nm，长

2-

度约为700 nm）、SO4 (

2 -

粒径约为150 nm，长度约为1.7μm）和PO43（-

粒径约为220 nm，

长度为4-5μm）逐渐增大。以上实验结果表明，由于疏水性的增强，ImK多肽在二氧化硅材料的矿化过程中更有利于介导形成形貌规则、表面光滑的材料；而且，随着与硅酸形成氢键强度由CO32-、SO4和PO4的依次增强，ImK多肽仿生合成出二氧化硅材料的尺寸也逐步增大；此外，I3K多肽可以在多肽自组装体表面直接沉积矿物离子，并仿生合成出与有机模板结构类似、形貌规整、粒径均一的二氧化硅材料，说明氢键作用在自组装结构的稳定和矿化成核的过程中发挥着重要作用[[82,](#_bookmark169) [83,](#_bookmark170) [220]](#_bookmark273)。

2- 3-



图6-6温和条件下，ImK多肽在不同离子中介导合成二氧化硅的SEM图：(a) I3K/Na2CO3，

(B) I3K/Na2SO4, (c) I3K/Na3PO4, (d) I6K/Na2CO3, (e) I6K/Na2SO4, (f) I6K/Na3PO4, (g) I9K/Na2CO3, (h) I9K/Na2SO4和(i) I9K/Na3PO4

Fig. 6-6 SEM images of silica directed by(a) I3K/Na2CO3, (b) I3K/Na2SO4, (c) I3K/Na3PO4, (d) I6K/Na2CO3, (e) I6K/Na2SO4, (f) I6K/Na3PO4, (g) I9K/Na2CO3, (h) I9K/Na2SO4, and (i)

I9K/Na3PO4 under ambient conditions.



图6-7 I3K多肽仿生矿化前后的TEM图：(a) I3K, (b) I3K/Na3PO4和(c) I3K/Na3PO4/SiO2 Fig. 6-7 TEM images of (a) I3K self-assemblies in pure water, (b) I3K self-assemblies in the presence of phosphate ions, and (c) hybrid silica aggregates templated by I3K self-assemblies under ambient conditions.

ImK多肽自组装体在CO32-、SO42-和PO43-三种离子中矿化后的二级结构如图6-8表示。CD数据显示，I3K多肽在不同离子环境中矿化时，三种离子条件下在的二级结构在218–225 nm处均有一个负峰（图6-8a），表明其二级结构都为β–折叠结构。而I3K/PO43-矿化体系在202 nm处有一个强的正峰，表明其中β–折叠的含量更高。当多肽疏水端氨基酸数量增大时，我们可以观察到I6K多肽和I9K多肽在不同离子中介导合成二氧化硅材料时也表现出类似的二级结构（如图6-8b和图6-8c所示）：CD数据在200–205 nm有一个正峰，在220–232 nm处有一个负峰，因此它们的二级结构也均为β–折叠结构，其二级结构在矿化前后变化不大。以上实验结果表明，作为ImK系列多肽疏水端的Ile（I）具有较强形成稳定的β–折叠结构的能力，其构象不易受到离子和硅酸的加入影响。



图6-8温和条件下，ImK多肽在不同离子中介导合成二氧化硅的CD图：(a) I3K/anion, （b）

I6K/anion和(c) I9K/anion

Fig. 6-8 CD spectra of the silicification system of (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K in the presence of different sodium salts under ambient conditions.

### 6.3.2 两亲性短肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅的研究

生物体作为一个复杂而精细的电解质溶液体系，它在与外界环境进行物质与能量的循环过程中，伴随有电荷的定向移动。因此，生物电在生物体内广泛存在。为了更好模拟生物体系中的矿化过程，考察电场对生物大分子仿生合成无机材料的影响有重要意义[[221,](#_bookmark274) [222]](#_bookmark275)。

#### 6.3.2.1 AmK多肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅材料

电场对AmK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料的影响如图6-9所示。相对于AmK两亲性短肽在温和条件下介导形成二氧化硅材料的形貌（图6-2），引入外加电场可以合成出形貌规则、粒径均一的材料：A3K多肽在电场作用下介导合成出纤维状结构二氧化硅材料

（如图6-9a），粒径约为80 nm，长度为5–10μm；而A3K多肽在温和条件下只介导形成球状的二氧化硅材料。当多肽疏水端氨基酸数量增大时，A6K多肽在电场作用下仿生合成出大量尺寸均一、表面光滑、轮廓清晰、结构有序完整的二氧化硅材料聚集体，并且这些纤维状的二氧化硅材料（粒径为500–700 nm，长度为5–10μm）紧密堆叠在一起，呈现发散式结构（如图6-9b）。当多肽疏水端氨基酸进一步增长时，A9K 多肽在电场作用下仿生合成出很多长且光滑纤维状结构的二氧化硅材料，其粒径约为200 nm，长度超过10μm（如图6-9c）。由此可见，电场作用对AmK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料的形貌和尺寸有重要影响：其形貌均倾向于均一的纤维状，尺寸则比温和条件的更长，并且电场条件下合成的二氧化硅材料具有更高的可控性。



图6-9 AmK多肽在电场条件下介导合成二氧化硅的SEM图：(a) A3K, (b) A6K和(c) A9K Fig. 6-9 SEM images of silica directed by (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K formed in the presence of electric field stimulation.

为了研究电场对AmK两亲性短肽在矿化过程中的影响，我们利用CD表征了电场作用下AmK多肽自组装体在二氧化硅矿化后多肽自组装体的二级结构（图6-10）。同时，为了研究电场因素对矿化体系的影响，两亲性短肽统一选用在PO4中进行自组装。结果显示，A3K、A6K和A9K三种多肽在外加电场作用矿化后的二级结构无明显区别：其CD数据约在202 nm处有一个正峰，约在218-220 nm处出现一个负峰，这表明矿化后的二级结构均为典型的β–折叠结构。同时，结合到相应的SEM实验结果，β–折叠的AmK多肽二级结构可能更倾向于仿生合成出纤维状结构的二氧化硅材料。此外，值得注意的是，AmK多肽自组装体在温和条件下进行矿化后的二级结构与多肽疏水端氨基酸长度有关（图6-3）：A3K和A6K多肽矿化体系的二级结构主要为无规卷曲结构，A9K多肽矿化体系的二级结构为β–折叠。因此，电场作用对疏水端氨基酸短的多肽二级结构的影响更为明显，这可能因为多

3-

肽疏水端氨基酸残基数量越多，多肽自组装体在水溶液中包裹得越紧密。



图6-10 AmK多肽在电场条件下介导合成二氧化硅的CD图：(a) A3K, (b) A6K和(c) A9K Fig. 6-10 CD spectra of the biosilicification system of (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K formed in the presence of electric field stimulation.

#### 6.3.2.2 VmK多肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅材料

电场作用同样对VmK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料的形貌和尺寸有重要影响（图

6-11）. V3K多肽在电场作用下介导合成出纤维状结构二氧化硅材料（图6-11a），粒径约为

160 nm，长度约为7μm。当多肽疏水端氨基酸数量增大时，V6K多肽能够在电场作用下介

导合成出尺寸均一、层次清晰、结构有序完整的纤维状二氧化硅材料，其粒径为200 nm，长度则超过10μm（如图6-11b）。当多肽疏水端氨基酸数量进一步增大时，V9K多肽在电场作用下仿生合成出长且光滑的带状二氧化硅材料，其粒径为100 nm，长度也超过10μm

（如图6-11c）。由此可见，相对于在温和条件下介导形成二氧化硅材料，外加电场对VmK多肽可控合成规整形貌的二氧化硅材料有重要作用：其形貌均倾向于长纤维状或带状，尺寸要比温和条件下介导生长的材料更长。这可能是由于电场强度作用下，阳离子多肽在ITO表面发生侧向聚集导致自组装体溶液的局部浓度升高，进而在矿化过程中有利于介导形成长纤维状或带状结构的二氧化硅材料。



图6-11 VmK多肽在电场条件下介导合成二氧化硅的SEM图：(a) V3K, (b) V6K和(c) V9K Fig. 6-11 SEM images of silica directed by (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K formed in the presence of electric field stimulation.

我们利用CD研究电场对VmK多肽自组装体（PO43-体系）在二氧化硅矿化过程中二级结构的影响（图6-12）。结果显示，V3K和V6K多肽在外加电场作用矿化后的二级结构无明显区别：其CD数据约在223–225 nm处出现一个负峰，这表明两种多肽在矿化后的二级结构均为β–折叠结构。而V9K多肽除了在228 nm附近处有一个负峰外，在204 nm处有一个强的正峰，典型的β–折叠结构。同时，结合到相应的SEM实验结果，β–折叠的VmK多肽二级结构可能更倾向于仿生合成出纤维状或带状结构的二氧化硅材料。此外，对比

VmK多肽自组装体在温和条件下进行矿化后的二级结构，我们可观察到加入电场后除了使吸收峰的强度增大外，电场作用对VmK多肽自组装体二级结构的影响不大，这可能与多肽

疏水端氨基酸Val（V）的疏水性比较强有关。



图6-12 VmK多肽在电场条件下介导合成二氧化硅的CD图：(a) V3K, (b) V6K和(c) V9K Fig. 6-12 CD spectra of the biosilicification system of (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K formed in the presence of electric field stimulation.

#### 6.3.2.3 ImK多肽在电场条件下仿Th合成二氧化硅材料

与AmK、VmK两种多肽不同，电场对ImK两亲性短肽二氧化硅矿化形貌的影响可分为两种情况（图6-13）：ImK多肽在外加电场作用下介导合成出由大量排列密集、粒径均一和表面光滑的纳米管所组成的网状二氧化硅材料（如图6-13a），其粒径（约为26 nm）和形貌与ImK多肽在温和条件下所介导形成的二氧化硅材料都无明显差别。这也再次证明I3K多肽自组装体作为矿化模板时有较强的稳定性，能够介导二氧化硅在模板的外表面进行有序沉积。当多肽疏水端氨基酸残基数量变大时，I6K多肽在电场作用下能够仿生合成出尺寸均一、表面光滑、轮廓清晰、结构有序完整的棒状二氧化硅纳米材料（粒径约为120 nm，长度约为900 nm），并且这些纳米材料紧密堆叠在一起，呈现发散式结构（图6-13b）。当多肽疏水端氨基酸进一步增长时，I9K多肽在电场作用下仿生合成出很多表面光滑的棒状二氧化硅材料，其尺寸（粒径约为100 nm，长度约为400 nm）比I6K多肽稍小一些（图6-13c）。由以上结果可知，电场作用对I3K 多肽介导二氧化硅矿化的影响较小，但对I6K和I9K多肽仿生合成二氧化硅材料的形貌和尺寸有重要影响：其形貌均倾向于均一的棒状

结构，尺寸则比温和条件的小一些。



图6-13 ImK多肽在电场条件下介导合成二氧化硅的SEM图：(a) I3K, (b) I6K和(c) I9K Fig. 6-13 SEM images of silica directed by (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K formed in the presence of electric field stimulation.

如图6-14所示，我们以CD观察分析电场作用对ImK多肽自组装体（PO4体系）在二氧化硅仿生合成过程中二级结构的影响。结果表明，I3K多肽在外加电场作用矿化后的二级结构在200 nm处有一个正峰，在218 nm附近处有一个负峰，属于典型的β–折叠结构，与I3K多肽在温和条件下矿化后的二级结构（图6-8a）差别不大；而I6K和I9K多肽的二级结构无明显区别：其CD数据约在224 nm处有一个负峰，这表明两种多肽在矿化后的构象均为β–折叠结构。同时，结合到相应的SEM实验结果，β–折叠的ImK多肽二级结构可能更倾向于仿生合成出管状或棒状结构的二氧化硅材料。此外，对比I6K和I9K多肽自组装体在温和条件下进行矿化后的情况，尽管加入电场后所形成二氧化硅材料的形貌有较大变化，但电场作用对它们自组装体二级结构的影响不大，我们猜测作为ImK系列多肽疏水端的Ile（I）疏水性比较强，能够形成稳定的β–折叠结构，其自组装体的二级结构不易受到外加电场的影响。

3-



图6-14 ImK多肽在电场条件下介导合成二氧化硅的CD图：(a) I3K, (b) I6K和(c) A9K Fig. 6-14 CD spectra of the biosilicification system of (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K formed in the presence of electric field stimulation.

值得注意的是，以上形貌并不是在SEM下的局部现象，而是广泛现象，我们经过多次重复试验也证实了，电场作用下所合成出二氧化硅材料的结构和形貌有较高的稳定性。

### 6.3.4 两亲性短肽仿Th合成二氧化硅复合材料的红外光谱分析

我们利用FT-IR表征技术进一步分析XmK两亲性短肽作为有机模板时，介导合成二氧化硅材料后的多肽二级结构，以及产物的组成成分。

图6-15为AmK多肽自组装体（PO43-体系）诱导合成的二氧化硅复合材料的FT–IR图。在A3K多肽介导矿化的二氧化硅材料中，1632 cm-1和1679 cm-1处的吸收峰是酰胺I 键

（*v*C=O）的特征峰，1547 cm-1处的吸收峰是酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰，前者说明复合材料中多肽二级结构为β–折叠和无规卷曲；1078 cm-1、962 cm-1和797 cm-1处的三个吸收峰分别是代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si-OH的伸缩振动和–Si–O–Si–的对称伸缩振动。在A6K多肽介导矿化的二氧化硅材料中，1640 cm-1处的吸收峰是酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1532 cm-1处的吸收峰是酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰，前者说明复合材料中多肽二级结构为无规卷曲；1052 cm-1、967 cm-1和802 cm-1处的三个吸收峰分别是代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动和–Si–O–Si–的对称伸缩振动。而在A9K多肽介导矿化的二氧化硅材料中，1629 cm-1处的吸收峰代表酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1547 cm-1处的吸收峰代表酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰，说明矿化产物中多肽的二级结构主要是β–折叠；1081 cm-1、969 cm-1和798 cm-1处的三个吸收峰分别代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动及–Si–O–Si–的对称伸缩振动。FT–IR结果表明，我们仿生合成的产物为AmK多肽和二氧化硅的复合材料，这与之前的CD结果一致。



图6-15 AmK多肽诱导合成的二氧化硅材料的红外光谱图：(a) A3K, (b) A6K和(c) A9K Fig. 6-15 FT–IR spectra of silica obtained from: (a) A3K, (b) A6K, and (c) A9K.

图6-16为VmK多肽自组装体（PO43-体系）仿生合成的二氧化硅复合材料的FT–IR图。在V3K多肽介导矿化的二氧化硅材料中，1628 cm-1处的吸收峰为酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1548 cm-1处的吸收峰为酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰；1084 cm-1、964 cm-1和798 cm-1处的三个吸收峰分别是代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动与–Si–O–Si–的对称伸缩振动；另外，在3448 cm-1处的吸收峰是残留水分或硅烷醇基团–OH的伸缩振动。在V6K多肽介导矿化的二氧化硅材料中，1624 cm-1处的吸收峰是酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1549 cm-1处的吸收峰是酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰；1085 cm-1、959 cm-1及793 cm-1处的三个吸收峰分别代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动及–Si–O–Si–的对称伸缩振动；在3438 cm-1处出现的吸收峰则是残留水分或硅烷醇基团–OH的伸缩振动引起的。而在V9K多肽介导矿化的二氧化硅材料中，1622 cm-1处的吸收峰代表酰胺I 键

（*v*C=O）的特征峰，1551 cm-1处的吸收峰代表酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰；1087 cm-1、960 cm-1和797 cm-1处的三个吸收峰分别是–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动和–Si–O–Si–的对称伸缩振动；另外，在3453 cm-1处的吸收峰则代表残留水分或硅烷醇基团–OH的伸缩振动。FT–IR结果说明VmK多肽自组装体仿生合成的矿化产物中，多肽的二级结构都主要是β–折叠，这与之前的CD分析结果一致，并且产物均为多肽和二氧化硅的复合材料。



图6-16 VmK多肽诱导合成的二氧化硅材料的红外光谱图：(a) V3K, (b) V6K和(c) V9K Fig. 6-16 FT–IR spectra of silica obtained from: (a) V3K, (b) V6K, and (c) V9K.

ImK多肽自组装体（PO43-体系）介导合成的二氧化硅复合材料的FT–IR结果如图6-17所示。在I3K多肽诱导矿化的二氧化硅材料中，1630 cm-1处的吸收峰为酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1546 cm-1处的吸收峰为酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰；1085 cm-1、964 cm-1和797 cm-1处的三个吸收峰分别是代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动与–Si–O–

Si–的对称伸缩振动；另外，在3441 cm-1处的吸收峰是残留水分或硅烷醇基团–OH的伸缩振动。在I6K多肽诱导矿化的二氧化硅材料中，1620 cm-1处的吸收峰是酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1547 cm-1处的吸收峰是酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰；1089 cm-1、965 cm-1及796 cm-1处的三个吸收峰分别代表–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si-OH的伸缩振动及–Si–O–Si–的对称伸缩振动；在3270 cm-1和3434 cm-1处出现的吸收峰则是残留水分或硅烷醇基团–

OH的伸缩振动引起的。而在I9K多肽诱导矿化的二氧化硅材料中，1627 cm-1处的吸收峰代表酰胺I键(*v*C=O)的特征峰，1544 cm-1处的吸收峰代表酰胺II键（*δ*N–H）的特征峰；1088 cm-1、968 cm-1和801 cm-1处的三个吸收峰分别是–Si–O–Si–的不对称伸缩振动、Si–OH的伸缩振动和–Si–O–Si–的对称伸缩振动；另外，在3274 cm-1和3434 cm-1处的吸收峰则代表残留水分或硅烷醇基团–OH的伸缩振动。FT–IR结果也说明ImK多肽自组装体仿生合成的矿化产物中，多肽的二级结构也主要是β–折叠，且产物均为多肽和二氧化硅的复合材料。



图6-17 ImK多肽诱导合成的二氧化硅材料的红外光谱图：(a) I3K, (b) I6K和(c) I9K Fig. 6-17 FT–IR spectra of silica obtained from: (a) I3K, (b) I6K, and (c) I9K.

### 6.3.5 两亲性短肽仿Th合成二氧化硅复合材料的热失重分析

我们借助热重分析仪（Thermogravimetric analysis, TGA）选取A6K、V6K和I6K三种多肽为对象，研究两亲性短肽作为有机模板仿生合成二氧化硅复合材料中组成成分的含量

（图6-18）。热失重分析在N2氛围中进行，从室温升至800°C，升温速率是5°C /min。如图6-18a所示，A6K多肽介导矿化的二氧化硅材料在25–100°C区间有一个失重峰，这是材料表面的吸附水挥发引起的；在100–200°C之间失重峰为样品中结合水脱除峰；随着温度的升高，250–450°C之间的失重峰是因为空心球内部多肽、添加剂分解造成的；而450–550°C 之间有一个小的失重峰，这可能与二氧化硅材料结合的短肽分解造成的；随后，TGA

曲线逐步趋于平缓，表明多肽与添加剂等已基本全部分解。V6K和I6K多肽诱导矿化合成二氧化硅复合材料的TGA数据也有类似的结果，它们的主要失重范围分别是300–420°C和220–420°C。根据TGA结果计算出，有机成分在A6K、V6K和I6K三种多肽介导合成得到二氧化硅复合材料的含量分别为70%、62%和40%。同时，TGA结果也证明产物是多肽和二氧化硅的复合材料。



图6-18两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料的TGA图：(a) A6K–silica，(b) V6K–silica和(c) I6K–silica

Fig. 6-18 TGA spectra of (a) A6K–silica, (b) V6K–silica, and (c) I6K–silica composites.

## **6.4** **XmK**系列多肽自组装体仿生合成二氧化硅的机理讨论

通过以上对两亲性短肽自组装和仿生合成的结果分析，我们提出了XmK系列多肽自组装体在不同条件下诱导合成二氧化硅材料的生物矿化模型和规律。

### 6.4.1 AmK多肽仿Th合成二氧化硅材料机理探讨

如图6-19所示，两亲性短肽分子AmK在纯水中分别自组装形成稳定的片状、管状和蠕虫状的纳米结构。两亲性短肽的疏水尾部长度的改变导致其在结构上的逐步转变与普通碳氢化的表面活性剂有类似之处，它们自组装所形成的纳米结构和疏水尾部的数目有很大关系。随着两亲性短肽疏水尾部氨基酸残基的增加，多肽分子表面自由能减小，容易聚集形成表面曲率小的聚集体。但两亲性多肽分子自组装和其他表面活性剂的组装不同，它们自组装形成纳米结构的主要驱动力，除了疏水端的相互作用力外，还有亲水端的静电相互排斥力，以及分子内与分子间的氢键相互作用[[206,](#_bookmark261) [223]](#_bookmark276)。随着无机离子的加入，AmK多肽通过静电相互作用组装形成比原来更大的聚集体。带正电的赖氨酸残基暴露在多肽自组装体

的表面，疏水段的丙氨酸残基则聚集在多肽自组装体的内部。当以AmK多肽分子自组装体为有机模板进行二氧化硅材料的仿生合成时，硅酸受到暴露两亲性多肽自组装体氢键作用和表面氨基的静电吸附作用而矿化成核，形成具有特定形貌的二氧化硅材料。A3K多肽仿生合成出球状的二氧化硅，而A6K多肽在不同离子中仿生合成出纤维状和片状的二氧化硅；随着多肽疏水端氨基酸残基的增加，多肽分子疏水端的相互结合更加紧密，亲水端的静电相互作用更强，A9K多肽自组装体仿生合成出纤维状的二氧化硅材料。同时根据多肽自组装体和二氧化硅矿化材料在形貌和尺寸上的差别，我们推测AmK多肽的矿化过程是从小的二氧化硅纳米颗粒开始，然后相互相邻的二氧化硅粒子之间发生缩合、长大，最终重组装形成长度更长、粒径更大的二氧化硅材料[[80]](#_bookmark167)。在二氧化硅矿化的整个过程中，多肽分子发挥着催化剂和介导剂的功能。此外，电场作用对AmK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料具有更高的可控性，矿化物的形貌均倾向于均一的纤维状，尺寸则比温和条件的更长。这与电场作用下，阳离子多肽AmK在ITO表面发生侧向聚集导致自组装体溶液的局部浓度增大，进而在矿化过程中有利于介导形成长纤维状结构的二氧化硅材料。



图6-19 AmK两亲性短肽作模板仿生合成硅材料的机理模型

Fig. 6-19 A schematic illustration of directing silica deposition directed by AmK short amphiphilic peptides.

### 6.4.2 VmK多肽仿Th合成二氧化硅材料机理探讨

VmK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料的矿化模型如图6-20所示。V3K、V6K和V9K三种两亲性短肽在纯水中分别自组装形成稳定的短纤维状和片状的纳米结构。在无机离子的作用下，VmK多肽通过静电作用组装形成尺寸比原来更大的纳米结构。带正电的赖氨酸残基暴露在多肽自组装体的表面，疏水段的缬氨酸残基则聚集在多肽自组装体的内部。当以VmK多肽分子自组装体为矿化模板仿生合成二氧化硅材料时，带负电的硅酸盐单体或小的低聚物在氢键作用和多肽自组装体表面氨基的静电吸附作用而矿化成核，组装形成具有特定形貌的二氧化硅材料。矿化合成材料的形貌与多肽疏水端缬氨酸残基数、溶液离子类型密切相关：V3K多肽仿生合成出纤维状的二氧化硅材料，而V6K多肽在不同离子中仿生合成出片状的二氧化硅材料。随着多肽疏水端氨基酸残基数目的增大，V9K多肽自组装体在CO32-体系中介导合成出形貌规整的棒状的二氧化硅材料；而在SO42 -和PO43-体系中均仿生合成出带状的二氧化硅材料。同时，与AmK两亲性短肽的矿化情况类似，根据VmK多肽自组装体和二氧化硅矿化材料在形貌和尺寸上的差别，我们推测VmK多肽的矿化过程也是从小的纳米二氧化硅开始，相互相邻的二氧化硅粒子之间逐步发生缩合和长大，最终重组装形成比有机模板长度更长、粒径更大的二氧化硅材料。此外，外加电场后也有利于

VmK两亲性短肽可控合成形貌和尺寸均一的二氧化硅材料，其尺寸则比温和条件的更大。



图6-20 VmK两亲性短肽作模板仿生合成硅材料的机理模型

Fig. 6-20 A schematic illustration of directing silica deposition directed by VmK short amphiphilic peptides.

### 6.4.3 ImK多肽仿Th合成二氧化硅材料机理探讨

ImK两亲性短肽仿生合成二氧化硅材料的矿化模型如图6-21所示。ImK系列多肽在纯水中能够自组装形成稳定的管状和片状的纳米结构。无机离子对ImK三种多肽的影响不同：

I3K在无机离子中仍然保持形成纳米管，其粒径也没发生大的变化；I6K在离子的作用下，通过静电作用组装形成纳米管结构；而I9K在无机离子中形成管状和片状纳米管结构。当以ImK多肽分子自组装体作为有机模板仿生合成二氧化硅材料时，带负电的硅酸盐单体或小的低聚物在氢键作用和多肽自组装体表面氨基的静电吸附作用而矿化成核，矿化形成了具有特定形貌的二氧化硅材料。矿化合成材料的形貌与多肽疏水端缬氨酸残基数、溶液离子类型密切相关：I3K多肽仿生合成出形貌规整、表面光滑的二氧化硅纳米管，而随着多肽疏水端氨基酸残基数目的增大，I6K和I9K多肽在不同离子中仿生合成出纤维状的二氧化硅材料。与AmK和VmK两亲性短肽的矿化情况不同，根据ImK多肽自组装体和二氧化硅矿化材料在形貌和尺寸上的差别，I3K 多肽由于自组装结构的稳定性，二氧化硅纳米颗

粒直接在多肽自组装体表面有序沉积，I6K和I9K多肽的矿化过程则是从小的纳米二氧化硅开始，相互相邻的二氧化硅粒子之间逐步发生缩合和长大，最终重组装形成比有机模板长度更长、粒径更大的二氧化硅材料。静电作用、氢键作用和疏水作用在多肽自组装体结构的稳定性和矿化过程发挥着重要作用[[82,](#_bookmark169) [83,](#_bookmark170) [207]](#_bookmark262)。此外，外加电场后对I3K多肽仿生合成二氧化硅材料影响不大，但有利于I6K和I9K两种多肽可控合成形貌和尺寸均一的棒状二氧化硅材料。



图6-21 ImK两亲性短肽作模板仿生合成硅材料的机理模型

Fig. 6-21 A schematic illustration of directing silica deposition directed by ImK short amphiphilic peptides.

## 6.5 本章小结

本章实验考察研究了不同物理化学条件对XmK两亲性短肽自组装体为有机模板时仿生合成二氧化硅材料的影响。通过对实验结果的综合分析，我们得出以下结论：

（1）温和条件下，两亲性短肽XmK疏水端氨基酸的类型、数目和溶液中无机离子的

类型对二氧化硅矿化产物形貌有重要影响；

（2）两亲性短肽XmK自组装体作为矿化模板仿生合成二氧化硅材料时具有不同的机理：I3K多肽由于自组装结构的稳定性，二氧化硅纳米颗粒能够直接在多肽自组装体表面有序沉积，最终矿化合成出与自组装体形貌类似的二氧化硅材料。而其它两亲性短肽的矿化过程则是先形成小的二氧化硅纳米颗粒，然后以其作为构筑基元，相互相邻的纳米粒子间发生缩合和长大，最终重组装形成比自组装体长度更长、粒径更大的二氧化硅材料。两亲性短肽自组装体在矿化过程中为二氧化硅的有序沉积提供了成核位点，并且具有催化作用及诱导功能；

（3）外加电场对I3K多肽矿化合成二氧化硅材料的形貌和尺寸均影响不大，但与温和条件下仿生合成出的材料相比，电场条件更利于其它两亲性短肽仿生合成出形貌与尺寸均一的二氧化硅材料，其尺寸也增大；

（4）本实验的研究为更深入地研究可控仿生合成二氧化硅复合材料提供了可靠的实验依据，丰富了我们对利用多肽自组装体为有机模板仿生合成无机材料的了解，并为在常温常压、中性条件下可控合成出具有特定形貌的无机材料提供了良好的思路。

# 第七章 结论

利用生物矿化的基本原理可控合成具有特定形貌的无机化合物已成为材料化学领域极具挑战性和吸引力的热点研究方向。本论文设计合成了一系列具有矿化活性的星形多肽和两亲性短肽分子，考察多肽在不同溶液环境中的组装情况，并以多肽组装体作为有机模板，在仿生学思想的指导下，在不同物理化学条件下介导合成具有特定形貌的二氧化硅材料，揭示多肽分子结构特征、多肽自组装与二氧化硅矿化材料形貌和结构三者间的关系，并探讨不同结构特征的多肽分子仿生合成二氧化硅机理。具体研究结论如下：

(1)设计合成了四种星形多肽PEIm-*g*-PLLn，具体包括PEI10-*g*-PLL1800、PEI10-*g*-PLL10000、PEI20-*g*-PLL1800 和PEI20-*g*-PLL10000。它们在纯水中能形成球状的纳米结构，其二级结构为无规则卷曲。在多肽中加入无机离子（CO32-、SO42-和PO43-）后，我们发现离子对星形多肽的形貌无明显影响，但可以通过静电作用形成尺寸更大的聚集体。然后，我们以星形嵌段共聚物PEIm-*g*-PLLn作为有机模板，利用自组装体表面赖氨酸残基的导向和催化作用，仿生合成了二氧化硅材料，并考察了不同类型的离子对矿化产物形貌的影响。我们发现以PEI10-*g*-PLL1800、PEI20-*g*-PLL1800和PEI10-*g*-PLL10000多肽为有机模板时，主要介导合成球状的二氧化硅材料，而PEI20-*g*-PLL10000多肽则能在不同浓度和不同离子中仿生合成出球状、纤维状和片状的二氧化硅材料。在星形多肽PEIm-*g*-PLLn的矿化过程中，星形多肽、无机离子和硅酸参与了仿生合成二氧化硅的整个过程；

(2)设计合成了九种两亲性短肽XmK，具体包括A3K、A6K、A9K、V3K、V6K、V9K、

I3K、I6K和I9K。它们在纯水中能自组装形成管状、片状和球状等纳米结构，其二级结构包括无规则卷曲和β–折叠两种。两亲性短肽XmK自组装体在形貌和二级结构上的差别来源于多肽自组装驱动力的不同。AmK系列多肽自组装体的形貌受到疏水作用力的影响较大，随着疏水端氨基酸残基数目的增多，逐步形成表面曲率小的多肽自组装体；而VmK和ImK系列多肽自组装中除了受疏水力的作用外，氢键在自组装体的形成和稳定中发挥着重要作用。同时，我们通过考察不同类型的离子对两亲性短肽自组装结构的影响，我们发现无机离子（CO32-、SO42-和PO43-）对两亲性短肽自组装体的形貌或尺寸有不同程度的影响。AmK和VmK系列两亲性短肽在无机离子中的自组装发生了明显聚集，其尺寸相对于纯水中的自组装结构更大，其中A9K和V9K多肽自组装的堆叠结构更加紧密。ImK系列两亲性短肽自

组装结构在无机离子中表现出不同的稳定性：I3K多肽在三种无机离子中自组装形成规则、光滑的纳米管，其形貌、粒径和多肽在纯水中的自组装体结构无明显变化，而I6K和I9K多肽在CO32-、SO42-和PO43-中由纳米片状转变成纳米管状结构。以上结果可能提示，两亲性短肽尾部的疏水作用力在其自组装结构的稳定性中发挥着重要作用，但当多肽的疏水性进一步增强时，会打破了原来自组装体系中亲水端与疏水端的平衡，氢键作用减弱，其自组装体结构容易受环境的影响。然后，我们以这些两亲性短肽自组装体作为有机模板，在温和条件下仿生合成出具有不同结构和形貌二氧化硅材料。由于I3K多肽自组装体具有较高稳定性，能在其表面直接诱导二氧化硅有序沉积；而其它两亲性短肽通过和无机离子、硅酸通过重组装介导合成二氧化硅材料，所合成的产物形貌和尺寸均与矿化前自组装体有较大改变。另外，我们考察了以两亲性短肽自组装体为有机模板在电场条件下诱导合成二氧化硅材料。与温和条件下仿生合成的材料形貌相比，外加电场后对I3K多肽介导矿化无明显作用，但有利于促进其它两亲性短肽介导合成尺寸均一、表面光滑、形貌规整的二氧化硅材料。并且，在电场作用下，阳离子多肽在ITO表面的局部浓度增大，使得两亲性短肽在仿生合成过程中更容易发生轴向的聚集，进而导致二氧化硅材料的尺寸也比温和条件下要大；需要指出的是，由于多肽自组装和生物矿化的复杂性，其机理还有待进一步研究和阐明；

（3）本论文通过设计不同结构特征的多肽分子来介导二氧化硅的仿生合成，有利于从分子设计角度比较不同的多肽分子对多肽自组装和二氧化硅矿化形貌的影响，揭示生物矿化体系中有机大分子的组成结构与其介导无机矿化物及自组装结构之间的复杂关系，为阐明多肽分子结构、组装体结构与矿化产物间的关系提供了可靠的信息。同时，通过调控自组装及仿生合成过程中物理化学条件，仿生合成出具有复杂结构的无机材料。系统认识不同类型的多肽分子介导二氧化硅材料的调控因素及矿化规律，实现无机材料结构和形貌的精确调控，并使这一经验性实验向可人为精确调控的方向发展。因此，本论文结果能为体外仿生合成特定形貌的无机材料提供了新的思路，对理解和掌握体外仿生合成的普适性规律也有较高的科学意义。

### 攻读博士学位期间的学术成果

[1]. **Q. R. Wang,** J. Yu, J. H. Zheng, D. J. Liu, F. Jiang, X. Zhang\* and W. Q. Li, Morphology-controlled synthesis of silica materials templated by self-assembled short amphiphilic peptides. *RSC Adv.*, 2013, *3*, 15955-15965.

[2]. **Q. R. Wang**, J. Yu, X. Zhang\*, D. J. Liu, J. H. Zheng, Y. Pan and Y. J. Lin. Controlled biosilification using self-assembled short peptides A6K and V6K. *RSC Adv.*, 2013, *3*, 2784-2793.

[3]. **Q. R. Wang**, J. Yu, Y. S. Yan, S. Q. Xu, F. F. Wang, Q. N. Li, J. Z. Wang, X. Zhang\* and D.

J. Liu\*. Controlled biomimetic silica formation using star-shaped poly(L-lysine). *Polym. Chem.,* 2012, *3*, 1284-1290.

[4]. J. Yu, **Q. R. Wang** and X. Zhang\*, Effects of external force fields on peptide self-assembly and biomimetic silica synthesis. *Appl. Surf. Sci.*, 2014, accepted.

[5]. N. Li, X. Zhang\*, **Q. R. Wang**, F. F. Wang and P. K. Shen\*. Biomimetic synthesis of silica hollow spheres using poly(L-lysine) and mechanism research. *RSC Adv.*, 2012, *2*, 3288-3297.

[6]. R. X. Wu, Y. Li, **Q. R. Wang**, J. Yu, F. Jiang, F. F. Wang and X. Zhang\*. Biosilica structures with controllable morphology produced by an electrochemical process on Indium Tin Oxide surfaces. *RSC Adv.*, 2012, *2*, 9887-9893.

[7]. F. F. Wang, F. Jiang, Y. Li, **Q. R. Wang** and X. Zhang\*. Formation of new biosilica structures by flow-induced forces. *RSC Adv.*, 2012, *2*, 5738-5747.

致 谢

毕业论文的完成，意味着我三年的博士研究生生活即将结束。顾首三载，感触良多。甚幸求学路上大家的关爱与支持，本人在此由衷感激！

首先，衷心感谢恩师张歆教授谆谆教诲、悉心培养和亲切关怀。从论文选题到博士论文完成三年多的时间里，我有幸得到了张老师的悉心指导，是他为我开启了科研之门，并教会我如何在科研道路上前进。导师渊博的专业知识、严谨的治学态度、忘我的工作热情以及谦虚的处世态度深深地感动着我，影响着我，这些优秀的品质将是我在未来人生道路上不断学习和努力的目标，也是我一生无价的精神财富，谨向恩师致以最崇高的敬意和最真挚的感谢！

衷心感谢汕大医学院的刘道军教授和郑锦鸿教授多年来实验工作的大力支持和指导！衷心感谢黄晓春教授和陈河如教授对我学术上的指导和帮助！

感谢汕大中心实验室测试中心的陈耀文主任及林月娟老师在样品表征方面提供专业的建议及便捷的测试条件！

感谢汕大多学科中心的杨菊蓉老师在圆二色谱测试方面提供便捷的测试条件！感谢汕大医学院的李伟秋老师和罗红军老师在分析测试方面提供支持和帮助！

感谢余君、江峰和许少强师弟在实验方面提供的无私帮助，也感谢本课题组的其他同学在我实验过程中提供各方面的帮助。

最后，衷心感谢白忙之中参与评阅论文及答辩的所有专家、教授。本研究得到国家自然科学基金（项目编号：20871080）的资助，感谢他们的大力支持！

参考文献

[1] S. Mann, *Nature* **1993**, *365*, 499-505.

[2] S. Mann, *Oxford University Press*, **2001**.

[3] F. Nudelman, N. A. Sommerdijk, *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 6582-6596.

[4] M. B. Dickerson, K. H. Sandhage, R. R. Naik, *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 4935-4978.

[5] R. Andre, M. N. Tahir, F. Natalio, W. Tremel, *FEBS Journal* **2012**, *279*, 1737-1749.

[6] Y. Yan, B. Hao, X. Wang, G. Chen, *Dalton Transactions* **2013**, *42*, 12179-12184.

[7] M. Hildebrand, *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 4855-4874.

[8] J. C. Weaver, G. W. Milliron, P. Allen, A. Miserez, A. Rawal, J. Garay, P. J. Thurner, J. Seto, B. Mayzel, L. J. Friesen, *The Journal of Adhesion* **2010**, *86*, 72-95.

[9] A. Arakaki, H. Nakazawa, M. Nemoto, T. Mori, T. Matsunaga, *Journal of the Royal Society Interface* **2008**, *5*, 977-999.

[10] C. T. Lefèvre, R. B. Frankel, D. A. Bazylinski, *eLS* **2011**.

[11] K. S. Katti, D. R. Katti, S. M. Pradhan, A. Bhosle, *Journal of Materials Research* **2005**, *20*, 1097-1100.

[12] J. England, M. Cusack, P. Dalbeck, A. Pérez -Huerta, *Crystal Growth & Design* **2007**, *7*, 307-310.

[13] H. Cölfen, *Nature Materials* **2010**, *9*, 960-961.

[14] X. Wang, M. Wiens, H. C. Schröder, S. Hu, E. Mugnaioli, U. Kolb, W. Tremel, D. Pisignano, W. E. Müller, *Advanced Engineering Materials* **2010**, *12*, B422-B437.

[15] X. Xiao, R. Liu, C. Qiu, D. Zhu, F. Liu, *Materials Science and Engineering: C* **2009**, *29*, 785-790.

[16] M. Marsh, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **2003**, *136*, 743-754.

[17] G. Falini, S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi, *Science* **1996**, *271*, 67-69.

[18] S. Busch, *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 1428-1431.

[19] Y. Wan, Y. Huang, C. Yuan, S. Raman, Y. Zhu, H. Jiang, F. He, C. Gao, *Materials Science and Engineering: C* **2007**, *27*, 855-864.

[20] S. Mann, *Journal of Materials Chemistry* **1995**, *5*, 935-946.

[21] S. Mann, B. Heywood, S. Rajam, V. Wade, *Springer* **1991**, 47-55.

[22] L. Addadi, S. Weiner, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1985**, *82*, 4110-4114.

[23] J. H. Fendler, *Current Opinion in Solid State and Materials Science* **1997**, *2*, 365-369.

[24] C. Kresge, M. Leonowicz, W. Roth, J. Vartuli, J. Beck, *Nature* **1992**, *359*, 710-712.

[25] W. Zhang, S. Liao, F. Cui, *Chemistry of Materials* **2003**, *15*, 3221-3226.

[26] L. Qiao, Q. -L. Feng, Z. Li, *Crystal Growth & Design* **2007**, *7*, 275-279.

[27] F. C. Meldrum, H. Cölfen, *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 4332-4432.

[28] Y. Yin, S. Yun, J. Fang, H. Chen, *Chemical Communications* **2009**, 5892-5894.

[29] J. Aizenberg, *MRS Bulletin* **2010**, *35*, 323-330.

[30] J. Gómez -Morales, M. Iafisco, J. M. Delgado-López, S. Sarda, C. Drouet, *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* **2013**, *59*, 1-46.

[31] E. Kasotakis, A. Mitraki, *Biopolymers* **2012**, *98*, 501-509.

[32] C. Li, L. Qi, *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 2388-2393.

[33] Q. Wang, X. Wang, L. Tian, Z. Cheng, F. Cui, *Soft Matter* **2011**, *7*, 9673-9680.

[34] M. Iijima, J. Moradian-Oldak, *Biomaterials* **2005**, *26*, 1595-1603.

*[35]* M. Iijima, D. Fan, K. M. Bromley, Z. Sun, J. Moradian-Oldak, *Crystal growth & design***2010**, *10*, 4815-4822.

[36] K. -I. Sano, T. Minamisawa, K. Shiba, *Langmuir* **2010**, *26*, 2231-2234.

[37] N. R. Haase, S. Shian, K. H. Sandhage, N. Kröger, *Advanced Functional Materials* **2011**, *21*, 4243-4251.

[38] J. Garcia, Y. Zhang, H. Taylor, O. Cespedes, M. E. Webb, D. Zhou, *Nanoscale* **2011**, *3*, 3721-3730.

*[39]* J. Wang, Q. Yang, C. Mao, S. Zhang, *Journal of Biomedical Materials Research Part A***2012**, *100*, 2929-2938.

[40] N. Kröger, R. Deutzmann, C. Ber gsdorf, M. Sumper, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2000**, *97*, 14133-14138.

*[41]* N. Yee, V. R. Phoenix, K. O. Konhauser, L. G. Benning, F. G. Ferris, *Chemical Geology***2003**, *199*, 83-90.

[42] T. Nishinaka, A. Takano, Y. Doi, M. Hashimoto, A. Nakamura, Y. Matsushita, J. Kumaki, E. Yashima, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 8120-8125.

[43] L. B. Gower, *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 4551-4627.

[44] M. Sumper, E. Brunner, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1187-1194.

[45] J. S. Evans, *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 4455-4462.

[46] J. D. Carter, T. H. LaBean, *ACS Nano* **2011**, *5*, 2200-2205.

*[47]* J. Aizenberg, J. C. Weaver, M. S. Thanawala, V. C. Sundar, D. E. Morse, P. Fratzl, *Science***2005**, *309*, 275-278.

[48] W. E. Müller, A. Boreiko, U. Schloßmacher, X. Wang, M. N. Tahir, W. Tremel, D. Brandt, J. A. Kaandorp, H. C. Schröder, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4501-4511.

[49] H. A. Currie, C. C. Perry, *Annals of Botany* **2007**, *100*, 1383-1389.

[50] C. C. Perry, T. Keeling-Tucker, *Chemical Communications* **1998**, 2587-2588.

[51] N. Savant, G. Snyder, L. Datnoff, *Advances in Agronomy* **1996**, *58*, 151-199.

[52] H. A. Lowenstam, S. Weiner, *Oxford University Press*, **1989**.

[53] E. Pouget, E. Dujardin, A. Cavalier, A. Moreac, C. Valery, V. Marchi-Artzner, T. Weiss, A. Renault, M. Paternostre, F. Artzner, *Nature Materials* **2007**, *6*, 434-439.

[54] L. Xia, Y. Liu, Z. Li, *Macromolecular Bioscience* **2010**, *10*, 1566-1575.

[55] J. M. Galloway, J. P. Bramble, S. S. Staniland, *Chemistry-A European Journal* **2013**, *19*, 8710-8725.

[56] Y. Yao, D. Wang, L. Han, S. Che, *Chemistry-A European Journal* **2013**, *19*, 15489-15492.

[57] H. Wang, T. M. Garakani, T. Krappitz, P. van Rijn, A. Böke r, *Journal of Materials Chemistry B* **2013**, *1*, 6427-6433.

[58] H. Nagasawa, *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* **2004**, *20*, 15-24.

[59] S. Albeck, L. Addadi, S. Weiner, *Connective Tissue Research* **1996**, *35*, 365-370.

[60] S. Mann, D. D. Archibald, J. M. Didymus, T. Douglas, B. R. Heywood, F. C. Meldrum, N. J. Reeves, *Science* **1993**, *261*, 1286-1292.

[61] D. E. Trilling, R. H. Brown, *Nature* **1998**, *395*, 775-777.

[62] M. Young, W. Debbie, M. Uchida, T. Douglas, *Annual Review of Phytopathology* **2008**, *46*, 361-384.

[63] C. Gao, Y. Wan, X. Lei, J. Qu, T. Yan, K. Dai, *Cellulose* **2011**, *18*, 1555-1561.

[64] Y. Zheng, H. Bai, Z. Huang, X. Tian, F. -Q. Nie, Y. Zhao, J. Zhai, L. Jiang, *Nature* **2010**, *463*, 640-643.

[65] K. Liu, X. Yao, L. Jiang, *Chemical Society Reviews* **2010**, *39*, 3240-3255.

[66] K. Liu, J. Du, J. Wu, L. Jiang, *Nanoscale* **2012**, *4*, 768-772.

[67] H. Chen, Z. Tang, J. Liu, K. Sun, S. R. Chang, M. C. Peters, J. F. Mansfield, A. Czajka-Jakubowska, B. H. Clarkson, *Advanced Materials* **2006**, *18*, 1846-1851.

[68] M. Reches, E. Gazit, *Science* **2003**, *300*, 625-627.

[69] O. Carny, D. E. Shalev, E. Gazit, *Nano Letters* **2006**, *6*, 1594-1597.

[70] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Science* **2001**, *294*, 1684-1688.

[71] E. D. Sone, S. I. Stupp, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 12756-12757.

[72] J. Kirkham, A. Firth, D. Vernals, N. Boden, C. Robinson, R. Shore, S. Brookes, A. Aggeli, *Journal of Dental Research* **2007**, *86*, 426-430.

[73] S. V. Patwardhan, *Chemical Communications* **2011**, *47*, 7567-7582.

[74] Y. A. Shchipunov, T. Y. Karpenko, *Langmuir* **2004**, *20*, 3882-3887.

[75] M. Numata, K. Sugiyasu, T. Hasegawa, S. Shinkai, *Angewandte Chemie* **2004**, *116*, 3341-3345.

[76] N. Kröger, S. Lorenz, E. Brunner, M. Sumper, *Science* **2002**, *298*, 584-586.

[77] S. V. Patwardhan, N. Mukherjee, S. J. Clarson, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers* **2001**, *11*, 193-198.

[78] S. V. Patwardhan, S. J. Clarson, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers* **2003**, *13*, 49-53.

[79] M. Sumper, S. Lorenz, E. Brunner, *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 5192-5195.

[80] M. M. Tomczak, D. D. Glawe, L. F. Drummy, C. G. Lawrence, M. O. Stone, C. C. Perry, D. J. Pochan, T. J. Deming, R. R. Naik, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 12577-12582.

[81] V. M. Yuwono, J. D. Hartgerink, *Langmuir* **2007**, *23*, 5033-5038.

[82] H. Xu, Y. Wang, X. Ge, S. Han, S. Wang, P. Zhou, H. Shan, X. Zhao, J. R. Lu, *Chemistry of Materials* **2010**, *22*, 5165-5173.

[83] S. Wang, X. Ge, J. Xue, H. Fan, L. Mu, Y. Li, H. Xu, J. R. Lu, *Chemistry of Materials* **2011**, *23*, 2466-2474.

*[84]* F. Rodríguez, D. D. Glawe, R. R. Naik, K. P. Hallinan, M. O. Stone, *Biomacromolecules***2004**, *5*, 261-265.

[85] J. Aizenberg, D. A. Muller, J. L. Grazul, D. Hamann, *Science* **2003**, *299*, 1205-1208.

[86] G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, *Science* **1991**, *254*, 1312-1319.

[87] S. Zhang, *Advances in Cancer Research* **2008**, *99*, 335-362. [88] S. I. Stupp, *Nano Letters* **2010**, *10*, 4783-4786.

[89] Y. Kumada, N. A. Hammond, S. Zhang, *Soft Matter* **2010**, *6*, 5073-5079.

[90] P. Koria, H. Yagi, Y. Kitagawa, Z. Megeed, Y. Nahmias, R. Sheridan, M. L. Yarmush, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**, *108*, 1034-1039.

[91] Y. Wang, L. Cao, S. Guan, G. Shi, Q. Luo, L. Miao, I. Thistlethwaite, Z. Huang, J. Xu, J. Liu, *Journal of Materials Chemistry* **2012**, *22*, 2575-2581.

[92] E. L. Bakota, Y. Wang, F. R. Danesh, J. D. Hartgerink, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1651-1657.

[93] D. A. Salick, J. K. Kretsinger, D. J. Pochan, J. P. Schneider, *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 14793-14799.

[94] X. Zhao, F. Pan, H. Xu, M. Yaseen, H. Shan, C. A. Hauser, S. Zhang, J. R. Lu, *Chemical Society Reviews* **2010**, *39*, 3480-3498.

[95] Z. Luo, S. Zhang, *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 4736-4754.

[96] J. F. Miravet, B. Escuder, M. D. Segarra-Maset, M. Tena-Solsona, I. W. Hamley, A. Dehsorkhi, V. Castelletto, *Soft Matter* **2013**, *9*, 3558-3564.

[97] C. J. Bowerman, W. Liyanage, A. J. Federation, B. L. Nilsson, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 2735-2745.

[98] K. L. Niece, J. D. Hartgerink, J. J. Donners, S. I. Stupp, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 7146-7147.

*[99]* S. E. Paramonov, H. -W. Jun, J. D. Hartgerink, *Journal of the American Chemical Society***2006**, *128*, 7291-7298.

[100] N. S. de Groot, T. Parella, F. X. Aviles, J. Vendrell, S. Ventura, *Biophysical Journal* **2007**, *92*, 1732-1741.

[101] B. K. Nanjwade, H. M. Bechra, G. K. Derkar, F. Manvi, V. K. Nanjwade, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2009**, *38*, 185-196.

[102] J. Yang, S. Cao, J. Li, X. Chen, W. Wu, F. Xu, J. Li, *Soft Matter* **2013**, *9*, 7553-7559.

[103] K. Naka, Y. Chujo, *Comptes Rendus Chimie* **2003**, *6*, 1193-1200.

*[104]* Z. -H. Zhou, P. -L. Zhou, S. -P. Yang, X. -B. Yu, L. -Z. Yang, *Materials Research Bulletin***2007**, *42*, 1611-1618.

[105] T. Tajima, A. Tsutsui, T. Fujii, J. Takada, Y. Takaguchi, *Polymer Journal* **2012**, *44*, 620-624.

[106] D. Wu, J. Yang, J. Li, L. Chen, B. Tang, X. Chen, W. Wu, J. Li, *Biomaterials* **2013**, *34*, 5036-5047.

[107] A. D. Schlüter, J. P. Rabe, *Angewandte Chemie International Edition* **2000**, *39*, 864-883.

[108] D. -L. Jiang, T. Aida, *Progress in Polymer Science* **2005**, *30*, 403-422.

[109] C. Gao, D. Yan, *Progress in Polymer Science* **2004**, *29*, 183-275.

[110] Y. Zhou, W. Huang, J. Liu, X. Zhu, D. Yan, *Advanced Materials* **2010**, *22*, 4567-4590.

[111] J. Liu, W. Huang, Y. Pang, P. Huang, X. Zhu, Y. Zhou, D. Yan, *Angewandte Chemie* **2011**, *123*, 9328-9332.

[112] H. Jin, W. Huang, X. Zhu, Y. Zhou, D. Yan, *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 5986-5997.

[113] D. Zhang, J. Wang, S. Chen, X. Cheng, T. Li, J. Zhang, A. Zhang, *Langmuir* **2012**, *28*, 16772-16781.

[114] H. K. Park, I. Lee, K. Kim, *Chemical Communications* **2004**, 24-25.

[115] W. Dong, H. Cheng, Y. Yao, Y. Zhou, G. Tong, D. Yan, Y. Lai, W. Li, *Langmuir* **2011**, *27*, 366-370.

[116] W. Dong, C. Tu, W. Tao, Y. Zhou, G. Tong, Y. Zheng, Y. Li, D. Yan, *Crystal Growth & Design* **2012**, *12*, 4053-4059.

*[117]* J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Proceedings of the National Academy of Sciences***2002**, *99*, 5133-5138.

[118] E. D. Spoerke, S. G. Anthony, S. I. Stupp, *Advanced Materials* **2009**, *21*, 425-430.

[119] H. Cui, M. J. Webber, S. I. Stupp, *Peptide Science* **2010**, *94*, 1-18.

[120] J. B. Matson, S. I. Stupp, *Chemical Communications* **2012**, *48*, 26-33.

[121] Y. Yang, U. Khoe, X. Wang, A. Horii, H. Yokoi and S. Zhang, *Nano Today* **2009**, *4*, 193-210.

[122] S. Vauthey, S. Santoso, H. Gong, N. Watson, S. Zhang, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 5355-5360.

[123] S. Scanlon, A. Aggeli, *Nano Today* **2008**, *3*, 22-30.

[124] G. von Maltzahn, S. Vauthey, S. Santoso, S. Zhang, *Langmuir* **2003**, *19*, 4332-4337.

[125] M. O. Guler, J. K. Pokorski, D. H. Appella, S. I. Stupp, *Bioconjugate Chemistry* **2005**, *16*, 501-503.

[126] R. Djalali, Y. -F. Chen, H. Matsui, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 5873-5879.

[127] I. A. Banerjee, L. Yu, H. Matsui, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2003**, *100*, 14678-14682.

[128] I. Hamley, *Soft Matter* **2011**, *7*, 4122-4138.

[129] Y. Zhao, J. Wang, L. Deng, P. Zhou, S. Wang, Y. Wang, H. Xu, J. R. Lu, *Langmuir* **2013**, *29*, 13457-13464.

[130] X. Zhao, Y. Nagai, P. J. Reeves, P. Kiley, H. G. Khorana, S. Zhang, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, *103*, 17707-17712.

[131] U. Khoe, Y. Yang, S. Zhang, *Langmuir* **2008**, *25*, 4111-4114.

[132] S. Koutsopoulos, L. Kaiser, H. M. Eriksson, S. Zhang, *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 1721-1728.

[133] P. Kiley, X. Zhao, M. Vaughn, M. A. Baldo, B. D. Bruce, S. Zhang, *PLoS Biology* **2005**, *3*, 1180-1186.

[134] U. Khoe, Y. Yang, S. Zhang, *Macromolecular Bioscience* **2008**, *8*, 1060-1067.

[135] S. Han, S. Cao, Y. Wang, J. Wang, D. Xia, H. Xu, X. Zhao, J. R. Lu, *Chemistry-A European Journal* **2011**, *17*, 13095-13102.

[136] M. R. Caplan, E. M. Schwartzfarb, S. Zhang, R. D. Kamm, D. A. Lauffenburger, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **2002**, *13*, 225-236.

[137] N. L. Goeden-Wood, J. D. Keasling, S. J. Muller, *Macromolecules* **2003**, *36*, 2932-2938.

[138] S. Jun, Y. Hong, H. Imamura, B. -Y. Ha, J. Bechhoefer, P. Chen, *Biophysical Journal* **2004**, *87*, 1249-1259.

[139] Y. Hong, R. L. Legge, S. Zhang, P. Chen, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1433-1442.

[140] Y. Zhao, H. Yokoi, M. Tanaka, T. Kinoshita, T. Tan, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1511-1518.

[141] L. Ruan, H. Zhang, H. Luo, J. Liu, F. Tang, Y. -K. Shi, X. Zhao, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**, *106*, 5105-5110.

[142] A. Aggeli, I. Nyrkova, M. Bell, R. Harding, L. Carrick, T. McLeish, A. Semenov, N. Boden, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**, *98*, 11857-11862.

[143] S. Fung, C. Keyes, J. Duhamel, P. Chen, *Biophysical journal* **2003**, *85*, 537-548.

[144] D. Zou, Z. Tie, C. Lu, M. Qin, X. Lu, M. Wang, W. Wang, P. Chen, *Biopolymers* **2010**, *93*, 318-329.

[145] Y. Hong, L. S. Lau, R. L. Legge, P. Chen, *Journal of Adhesion* **2004**, *80*, 913-931.

[146] V. Castelletto, I. Hamley, C. Cenker, U. Olsson, *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 8002-8008.

[147] Z. Luo, B. Åkerman, S. Zhang, B. Nordén, *Soft Matter* **2010**, *6*, 2260-2270.

[148] S. Zhang, A. Rich, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94*, 23-28.

[149] Z. Luo, X. Zhao, S. Zhang, *PloS One* **2008**, *3*, e2364.

[150] D. J. Pochan, J. P. Schneider, J. Kretsinger, B. Ozbas, K. Rajagopal, L. Haines, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 11802-11803.

[151] R. V. Rughani, M. C. Branco, D. J. Pochan, J. P. Schneider, *Macromolecules* **2010**, *43*, 7924-7930.

[152] T. Muraoka, H. Cui, S. I. Stupp, *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 2946-2947.

[153] D. M. Marini, W. Hwang, D. A. Lauffenburger, S. Zhang, R. D. Kamm, *Nano Letters* **2002**, *2*, 295-299.

[154] H. Yokoi, T. Kinoshita, S. Zhang, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, *102*, 8414-8419.

[155] E. Pouget, E. Dujardin, A. Cavalier, A. Moreac, C. Valéry, V. Marchi -Artzner, T. Weiss, A. Renault, M. Paternostre, F. Artzner, *Nature Materials* **2007**, *6*, 434-439.

[156] Y. Shi, C. Tu, Q. Zhu, H. Qian, J. Ren, C. Liu, X. Zhu, D. Yan, E. S. Kong, P. He, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 445609-445614.

[157] M. Krämer, J. F. Stumbé, H. Türk, S. Krause, A. Komp, L. Delineau, S. Prokhorova, H. Kautz, R. Haag, *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, *41*, 4252-4256.

[158] Z. Jia, Y. Zhou, D. Yan, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, *43*, 6534-6544.

[159] Z. Iatridi, C. Tsitsilianis, *Polymers* **2011**, *3*, 1911-1933.

[160] H. Hong, Y. Mai, Y. Zhou, D. Yan, Y. Chen, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, *46*, 668-681.

[161] X. Huang, Y. Xiao, M. Lang, *Macromolecular Research* **2011**, *19*, 113-121.

[162] Y. Mai, Y. Zhou, D. Yan, *Macromolecules* **2005**, *38*, 8679-8686.

*[163]* M. Ornatska, S. Peleshanko, B. Rybak, J. Holzmueller, V. V. Tsukruk, *Advanced Materials***2004**, *16*, 2206-2212.

[164] B. I. Voit, A. Lederer, *Chemical Reviews* **2009**, *109*, 5924-5973.

[165] Y. Liu, C. Yu, H. Jin, B. Jiang, X. Zhu, Y. Zhou, Z. Lu, D. Yan, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 4765-4770.

[166] J. J. Yuan, R. H. Jin, *Advanced Materials* **2005**, *17*, 885-888. [167] L. Xia, Z. Li, *Langmuir* **2010**, *27*, 1116-1122.

[168] R. Wu, Y. Li, Q. Wang, J. Yu, F. Jiang, F. Wang, X. Zhang, *RSC Advances* **2012**, *2*, 9887-9893.

[169] F. Wang, F. Jiang, Y. Li, Q. Wang, X. Zhang, *RSC Advances* **2012**, *2*, 5738-5747.

[170] N. Li, X. Zhang, Q. Wang, F. Wang, P. Shen, *RSC Advances* **2012**, *2*, 3288-3297.

[171] D. Belton, G. Paine, S. V. Patwardhan, C. C. Perry, *Journal of Materials Chemistry* **2004**, *14*, 2231-2241.

[172] A. F. Wallace, J. J. DeYoreo, P. M. Dove, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 5244-5250.

[173] G. Verma, P. Hassan, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15*, 17016-17028.

[174] J. D. Hartgerink, J. R. Granja, R. A. Milligan, M. R. Ghadiri, *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 43-50.

[175] X. Zhao, S. Zhang, *Polymers for Regenerative Medicine* **2006**, *203*, 145-170.

[176] R. B. Merrifield, *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 2149-2154.

[177] B. Merrifield, *Science* **1986**, *232*, 341-347.

[178] S. L. Pedersen, A. P. Tofteng, L. Malik, K. J. Jensen, *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 1826-1844.

[179] E. Atherton, H. Fox, D. Harkiss, R. Sheppard, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1978**, 539-540.

[180] Q. Meng, Y. Kou, X. Ma, Y. Liang, L. Guo, C. Ni, K. Liu, *Langmuir* **2012**, *28*, 5017-5022.

[181] S. Han, W. Xu, C. Meiwen, J. Wang, D. Xia, H. Xu, X. Zhao, J. R. Lu, *Soft Matter* **2012**, *8*, 645-652.

[182] C. Chen, F. Pan, S. Zhang, J. Hu, M. Cao, J. Wang, H. Xu, X. Zhao, J. R. Lu, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 402-411.

[183] H. Cui, M. J. Webber, S. I. Stupp, *Biopolymers* **2010**, *94*, 1-18.

[184] C. Chen, J. Hu, S. Zhang, P. Zhou, X. Zhao, H. Xu, X. Zhao, M. Yaseen, J. R. Lu, *Biomaterials* **2012**, *33*, 592-603.

[185] H. Jiang, M. O. Guler, S. I. Stupp, *Soft Matter* **2007**, *3*, 454-462.

[186] S. I. Stupp, L. C. Palmer, *Chemistry of Materials* **2014**, *26*, 507-518.

[187] G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, *Physical Review Letters* **1986**, *56*, 930-933.

[188] F. J. Giessibl, *Reviews of Modern Physics* **2003**, *75*, 949-983.

[189] W. S. Gosal, S. L. Myers, S. E. Radford, N. H. Thomson, *Protein and Peptide Letters* **2006**, *13*, 261-270.

[190] N. Sreerama, S. Y. Venyaminov, R. W. Woody, *Analytical Biochemistry* **2000**, *287*, 243-251.

[191] N. J. Greenfield, *Nature protocols* **2007**, *1*, 2876-2890.

[192] N. J. Greenfield, *Nature protocols* **2007**, *1*, 2891-2899.

[193] L. Whitmore, B. A. Wallace, *Biopolymers* **2008**, *89*, 392-400.

[194] A. Dong, P. Huang, W. S. Caughey, *Biochemistry* **1992**, *31*, 182-189.

[195] J. Kong, S. Yu, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* **2007**, *39*, 549-559.

[196] I. W. Hamley, A. Dehsorkhi, V. Castelletto, J. Seitsonen, J. Ruokolainen, H. Iatrou, *Soft Matter* **2013**, *9*, 4794-4801.

[197] C. Li, Y. Tang, S. P. Armes, C. J. Morris, S. F. Rose, A. W. Lloyd, A. L. Lewis, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 994-999.

[198] O. Soga, C. F. van Nostrum, M. Fens, C. J. Rijcken, R. M. Schiffelers, G. Storm, W. E. Hennink, *Journal of Controlled Release* **2005**, *103*, 341-353.

[199] J. S. Capes, P. J. Kiley, A. H. Windle, *Langmuir* **2010**, *26*, 5637-5644.

[200] J. -B. Guilbaud, C. Rochas, A. F. Miller, A. Saiani, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 1403-1411.

[201] L. M. Carrick, A. Aggeli, N. Boden, J. Fisher, E. Ingham, T. A. Waigh, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 7457-7467.

[202] M. Cao, Y. Wang, X. Ge, C. Cao, J. Wang, H. Xu, D. Xia, X. Zhao, J. R. Lu, *The Journal of Physical Chemistry B* **2011**, *115*, 11862-11871.

[203] S. Roy, N. Javid, P. W. Frederix, D. A. Lamprou, A. J. Urquhart, N. T. Hunt, P. J. Halling, R. V. Ulijn, *Chemistry-A European Journal* **2012**, *18*, 11723-11731.

*[204]* Y. S. Velichko, S. I. Stupp, M. Olvera de la Cruz, *The Journal of Physical Chemistry B***2008**, *112*, 2326-2334.

[205] S. Tsonchev, K. L. Niece, G. C. Schatz, M. A. Ratner, S. I. Stupp, *The Journal of Physical Chemistry B* **2008**, *112*, 441-447.

*[206]* S. Han, S. Cao, Y. Wang, J. Wang, D. Xia, H. Xu, X. Zhao, J. R. Lu, *Chemistry-A*

*European Journal* **2011**, *17*, 13095-13102.

[207] E. T. Pashuck, H. Cui, S. I. Stupp, *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 6041-6046.

[208] A. Dehsorkhi, I. Hamley, *Soft Matter* **2014**, *10*, 1660-1664.

[209] D. Walsh, J. D. Hopwood, S. Mann, *Science* **1994**, *264*, 1576-1578.

[210] M. Wan, *Advanced Materials* **2008**, *20*, 2926-2932.

[211] L. Berti, G. A. Burley, *Nature Nanotechnology* **2008**, *3*, 81-87.

[212] E. Katz, I. Willner, *Angewandte Chemie* **2004**, *116*, 6166-6235.

[213] I. W. Hamley, *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 8274-8295.

[214] C. L. Chen, N. L. Rosi, *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*, 1924-1942.

[215] K. Tao, J. Wang, Y. Li, D. Xia, H. Shan, H. Xu, J. R. Lu, *Scientific Reports* **2013**, *3*, 2565.

[216] Y. Dou, H. Xu, J. Hao, *Soft Matter* **2013**, *9*, 5572-5580.

[217] C. W. P. Foo, J. Huang, D. L. Kaplan, *Trends in Biotechnology* **2004**, *22*, 577-585.

[218] R. Bitton, L. W. Chow, R. H. Zha, Y. S. Velichko, E. T. Pashuck, S. I. Stupp, *Small* **2014**, *10*, 500-505.

[219] S. Wang, J. Xue, X. Ge, H. Fan, H. Xu, J. R. Lu, *Chemical Communications* **2012**, *48*, 9415-9417.

[220] M. Mittal, E. M. Furst, *Advanced Functional Materials* **2009**, *19*, 3271-3278.

[221] T. D. Edwards, M. A. Bevan, *Langmuir* **2014**, DOI: 10.1021/la500178b.

[222] M. K. Baumann, M. Textor, E. Reimhult, *Langmuir* **2008**, *24*, 7645-7647.

[223] H. Xu, J. Wang, S. Han, J. Wang, D. Yu, H. Zhang, D. Xia, X. Zhao, T. A. Waigh, J. R. Lu, *Langmuir* **2009**, *25*, 4115-4123.