

天然丝的形成及人工纺丝的研究进展

白向丽, 袁文肃

天津大学 生命科学学院, 天津 300072

白向丽, 袁文肃. 天然丝的形成及人工纺丝的研究进展. 生物工程学报, 2020, 36(9): 1767-1778.

Bai XL, Yuan WS. Formation of natural silk and progress in artificial spinning. Chin J Biotech, 2020, 36(9): 1767-1778.

摘要: 蜘蛛丝和蚕丝是性能优异的天然丝类材料, 具有极高的力学性能、良好的生物相容性和生物可降解性, 可广泛应用于纺织、光学、电子、生物医学和环境工程等领域。迄今为止, 已经有湿法纺丝、干法纺丝和静电纺丝等多种在实验室规模下进行人工纺丝的方法。然而, 现阶段大部分的人工丝纤维性能仍比不上天然丝纤维。处理好人工丝纤维层级结构和力学性能之间的关系, 是人工纺丝领域亟待解决的问题。文中围绕天然丝纤维的形成、丝纤维力学性能与层级结构的关系、人工纺丝领域的研究进展和丝纤维的应用等方面进行了介绍。

关键词: 天然纺丝, 丝蛋白, 力学性能, 层级结构, 人工纺丝

Formation of natural silk and progress in artificial spinning

Xiangli Bai, and Wensu Yuan

School of Life Sciences, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: Natural silks, produced by spiders and silkworms, are excellent materials with marvelous mechanical properties, biocompatibility and biodegradability, and widely used in the fields of textile, optics, electronics, biomedicine and environmental engineering. So far, there are many spinning methods to improve the mechanical properties of artificial fibers, such as wet spinning, dry spinning, and electrospinning. However, the performance of most artificial fibers is still inferior to natural silks. It is important to understand the correlations between hierarchical structures and performance in the field of artificial spinning. This review introduces the formation of natural silks, the relationship between the mechanical properties of silks and the hierarchical structure, the research progress in artificial spinning, and the application of silks.

Keywords: natural spinning, fibroin and spidroin, mechanical properties of silks, hierarchical structure, artificial spinning

动物丝是地球上含量最丰富的天然高分子材料之一, 由于具有可再生性、生物降解性和生物相容性, 可广泛应用于纺织、光学、电子、生物医学和环境工程等领域^[1]。天然丝纤维优异的力

学性能与丝蛋白氨基酸构成和层级结构密切相关。此外, 丝蛋白形成纺丝原液的过程, 纺丝原液形成丝纤维的过程也是影响天然丝性能的关键^[2]。人们通过对天然丝形成的过程、机制和层

Received: January 14, 2020; **Accepted:** March 8, 2020

Supported by: Natural Science Foundation of Tianjin, China (No. 17JCYBJC24200).

Corresponding author: Wensu Yuan. Tel: +86-22-27403906; E-mail: yuanwensu@tju.edu.cn

天津市自然科学基金 (No. 17JCYBJC24200) 资助。

网络出版时间: 2020-04-07

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200403.2254.004.html>

级结构等内容的研究,以期利用人工纺丝得到可与天然丝材料相媲美的人工丝蛋白纤维^[3]。然而,人工丝纤维的力学性能以及生物相容性,受到纺丝原液的浓度和成分、凝固浴类型、出丝口速度、环境温度和湿度、纺丝设备形状以及后处理试剂和过程等因素的综合影响^[4]。尽管目前已有多种较为成熟的人工纺丝方法,但其产品无法保持天然丝的层级结构和力学性能优势^[5]。本文介绍了天然丝的形成及其力学性能与层级结构的关系,以及常见的人工纺丝方法。

1 天然成丝的过程和机制

1.1 丝腺

1.1.1 蚕丝腺

蚕的产丝器官——蚕丝腺起源于唾液腺,成对存在,可分为后部丝腺 (PSG)、中部丝腺 (MSG) 和前部丝腺 (ASG) 3 个部分。后部丝腺上皮细胞负责产生分泌丝素蛋白,在丝腺中部管腔内形成高浓度可溶的纺丝原液,中部丝腺上皮细胞负责分泌 3 种不同类型的丝胶蛋白^[6]。前部丝腺漏斗状部位至出丝口部位的内部覆盖一层角质层膜,推测其作用有两点:一是避免丝腺内皮细胞受到丝纤维机械损伤,二是作为“透析膜”帮助纺丝原液脱水形成丝^[7-8]。一对丝腺体产生的两根丝素蛋白纤维在吐丝管的位置组成单根丝^[8-9]。

1.1.2 蜘蛛丝腺

雌性蜘蛛体内有 7 种不同的纺丝腺体,产生 6 种结构、性能和功能不同的蛛丝和 1 种丝胶^[10]。其中,最大的为主壶腹腺,它分为 3 部分:尾部 (Tail)、囊 (Sac) 和导管 (Duct),导管的末端有喷丝口^[11]。尾部上皮细胞分泌蛛丝蛋白,在囊状区域管腔内形成高浓度可溶性纺丝原液,通过导管区域运输至喷丝口形成蛛丝^[10]。与蚕丝腺类似,在漏斗处和导管区域内部也有一层角质层内皮^[7, 12]。

1.2 丝蛋白

1.2.1 丝素蛋白

蚕丝的力学性能主要由丝素蛋白纤维决定。丝素蛋白 (Fibroin) 是由一条分子量约为 350 kDa 的重链蛋白和一条分子量约 25 kDa 的轻链蛋白以二硫键连接,与一个分子量约为 30 kDa 的糖蛋白 P25 以非共价作用连接而成^[13]。丝素蛋白重链末端是亲水的氨基末端和羧基末端结构域 (FibNT 和 FibCT),中间由 12 个较大的疏水结构域 (重复域) 和 11 个较小的亲水结构域 (非重复域) 组成。疏水域可分为 4 个不同的亚域, (GAGAGS)_n 亚域是构成 β -微晶的主要单元^[9]。

1.2.2 牵引丝蛋白

牵引丝是构成蜘蛛网框架的主要成分,由主壶腹腺蛛丝蛋白 MaSp1 和 MaSp2 构成, MaSp1 是其主要成分。MaSp1 由富含甘氨酸和丙氨酸的高度重复序列 (GA)_n 以及两端非重复序列 (SpNT 和 SpCT) 组成^[14-15]。蛛丝蛋白 (Spidroin) 重复域在不同蜘蛛体内有很大差异,通常包含数百个重复单元。蛛丝蛋白的分子量与力学性能并不呈单纯的正相关的关系^[16]。研究表明,具有较长聚丙氨酸区域的丝纤维强度更高,而具有高含量甘氨酸区域的丝纤维延展性更高^[17]。蛛丝蛋白的末端结构域是控制蛛丝蛋白溶解度和自组装的调控元件,它们在进化上高度保守^[12]。

1.3 天然纺丝原液

1.3.1 “胶束”假说

天然纺丝原液是指丝腺分泌的丝素蛋白水溶液,用于丝纤维的形成。纺丝原液在后部、中部和前部丝腺管腔内的浓度分别为 12%–15% (W/V)、25% (W/V) 和 30% (W/V) 左右^[18]。可稳定储存的高浓度纺丝原液对纤维的形成至关重要。“胶束”假说认为高浓度纺丝原液中丝素蛋白是以蛋白胶束形式储存的^[19]。丝素蛋白分子在后部丝腺中主要以无规则卷曲和 α -螺旋状态存在,中部丝腺的丝素蛋白开始出现少量 β -折叠片层结构,前部丝腺和已固化的丝纤维中出现大量 β -折叠片层结

构。Jin 等研究发现,家蚕丝素蛋白水溶液中具有直径 100–200 nm 的微胶束,当微胶束通过纺丝管道时,聚集成直径 0.8–15 μm 的球状丝素蛋白,在剪切力的作用下拉伸排列,形成 β -折叠片层结构丰富的微纤维。家蚕丝腺内纺丝原液和天然蚕丝纤维核心都出现球状结构的事实与该假说一致^[20-21]。

1.3.2 “液晶”假说

蜘蛛主壶腹腺囊中纺丝原液稳定的储存浓度为 30%–50% (W/V)^[18]。“液晶”假说认为,主壶腹腺内的蛛丝蛋白是以高浓度向列相液晶形式生产和储存的^[22]。新合成的蛛丝蛋白与其分泌细胞垂直排列,当纺丝原液经过纺丝管道时,由于拉伸流动和剪切力作用,蛛丝蛋白平行于纺丝管道排列。这种假说解释了高浓度纺丝原液的低粘度性和低聚集倾向性^[23]。然而,研究表明蛛丝蛋白在靠近喷丝口的区域才开始出现大量 β -折叠片层构象,在此之前以 α -螺旋和无规则卷曲构象为主,呈球形^[18]。Viney 等提出假说,单独的蛛丝蛋白是球状的,多个蛛丝蛋白亚基则能够形成长的超分子棒状结构^[24-25]。尽管高浓度丝蛋白溶液存储形式仍有待确认,但是以蛋白胶束或者液晶相状态储存的假说并不互相排斥。

1.4 成丝的影响因素

1.4.1 pH 梯度

丝腺合成的碳酸酐酶 (Carbonic anhydrase) 和 ATP 酶驱动的质子泵,负责产生 H^+ 和 HCO_3^- , 形成丝腺内的 pH 梯度,控制丝蛋白的构象、稳定性和溶解度,对于丝蛋白的聚合、纺丝原液的液晶形态形成以及丝纤维的形成都至关重要^[6,26]。丝腺内纺丝原液 pH 是沿纺丝腺逐渐降低的,最新测得蚕丝腺内 pH 梯度为 8.2–6.2^[6],蜘蛛主壶腹腺内 pH 梯度 7.6–5.7^[26-27]。

丝蛋白构象的改变主要是通过酸性氨基酸残基质子化完成的。FibNT 在中性 pH 条件下采用无规则卷曲构象,在较低 pH 条件下呈反平行 β -折叠片层构象^[19]。此外, FibNT 随着丝腺中 pH 的降低,能够形成胶束结构,诱发丝素蛋白的自组

装,促进丝纤维的形成^[19]。SpNT 在中性和较高 pH 条件下,主要以高溶解度的单体形式存在,在 pH 小于 6.4 时发生二聚反应^[28-29]。SpCT 在 pH 高于 6.5 时以 α -螺旋形式存在,稳定且溶解性强,通常以二硫键连接形成同源二聚体。SpCT 在 pH 低于 5.5 的条件下形成 β -折叠片层结构,诱发蛛丝纤维的形成^[14,26]。

1.4.2 离子梯度

生物体内,金属离子可以选择性地与丝蛋白主链和侧基配位,也可以破坏或增强分子链上的氢键,从而影响丝纤维的强度、韧性、杨氏模量等力学性能^[30]。研究表明,蚕后部到前部丝腺的 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 浓度递增,而 Ca^{2+} 浓度降低^[31]。蜘蛛主壶腹腺导管附近区域, Na^+ 和 Cl^- 浓度降低, K^+ 、 PO_4^{3-} 浓度增加^[13]。研究表明,随着 Ca^{2+} 浓度的提高,丝蛋白的 α -螺旋和无规则卷曲构象水平先降低再升高, β -折叠片层构象水平与之相反,蚕丝的延展性和直径增加^[32]。 K^+ 和 PO_4^{3-} 有利于重组蛛丝蛋白聚集,从而促进丝纤维的形成^[33]。

1.4.3 剪切力

丝腺几何形状的改变,能够使其内部产生剪切应力^[34]。纺丝原液在纺丝管道中受到流动拉伸和剪切应力,丝蛋白转变为 β -折叠片层构象并沿着丝纤维轴平行排列^[35]。剪切力能够促进丝素蛋白分子的取向和结构转变,改善丝纤维的力学性能。然而,不改变 pH、离子类型和浓度梯度等条件,仅控制剪切力得到的再生丝力学性能依然比天然蚕丝差^[36]。综上,丝蛋白需要在剪切力、pH 和金属离子梯度等多种因素共同作用下,充分变形,自发脱水,重折叠,相分离,最终聚集形成具有优异力学性能的固态丝纤维。

2 天然丝的层级结构

天然丝是一种半晶体材料,结晶区分散在非结晶区域中,丝蛋白大分子链取向平行于丝纤维轴。研究表明,丝纤维的强度和刚性取决于内部晶体区域的含量、微晶的尺寸和排列方向,而丝

纤维的弹性则取决于包括无规则卷曲和 α -螺旋结构在内的非晶体区域的含量^[16,37]。核磁共振和 X 射线衍射实验表明,微晶状颗粒存在于丝纤维上且具有良好取向^[38]。丝蛋白特有的结构和分子取向,使丝纤维具有独特力学性能^[39]。人们根据已有的研究成果,相继提出多种丝纤维可能的层级结构模型。

2.1 三种“简单”模型

Termonia 首先提出“块状网状”模型(Bulk network model)(图 1A),将其蜘蛛牵引丝描述为一种用氢键结合类橡胶基体,嵌入基体的晶体作为交联位点,在非晶区形成一层高模量的薄层^[14,39]。Termonia 模型将丝纤维作为一个整体且预测的 β -晶体含量远高于实际值^[37],但解释了丝纤维力学性能源于 β 晶体。其次是 Vollrath 等提出“圆柱原纤维”模型(Cylindrical fibril model)(图 1B),基于蜘蛛和蚕丝纤维表面存在直径 90–170 nm 原纤维的事实,认为丝纤维是由大量的原纤维组成^[40-41]。随着丝纤维表面螺旋状原纤维的发现,Jin 等在“圆柱原纤维”模型基础上又提出“胶束”模型(Micellar model)(图 1C),认为纤维表面的螺旋状原纤维是胶束结构聚结和伸长的结果^[20]。纳米原纤维是最简单的丝纤维结构单元,然而并不足以解释丝纤维优异的力学性能。

2.2 两种“层次”模型

随着丝纤维结构向更小的尺寸探索,Zhou 等提出了“层次链”模型(Hierarchical chain model)(图 1D),认为丝纤维是由许多结构基元组成的,这些基元以分级的方式组织成结构模块和超模块。蛛丝中最小的基元是 β -折叠片层形成的微晶结构、 α -螺旋以及无规则卷曲^[42-43]。Porter 等提出“串珠”模型(String of beads model)(图 1E),认为天然丝的力学性能是由丝蛋白分子链的特定折叠片段组成的纳米级珠状结构决定的。每个珠子包含 7 个折叠结构,每个折叠有 6–10 个长 2–4 nm 的肽段^[44-45]。这两种模型认为丝纤维存

在复杂的层次结构,但并没有精准解释各层级的构成。

2.3 “平板分段”模型

以重组蛛丝蛋白为研究对象,Oroudjev 等提出了“平板分段”模型(Slab segment model)(图 1F)。该模型认为单个丝蛋白分子多肽链折叠成一个扁平的片状结构,包括 4 个被亲水非 α -螺旋结构间隔开的疏水 β -折叠片层。在水溶液中,30 个片状结构以“对齐排列”或“交错排列”的方式堆叠,平行于丝纤维轴,形成蛛丝中纳米纤维的片段^[46]。然而,研究表明丝纤维中“平板结构”多于该模型的假设^[47]。

2.4 “纳米鱼网”模型

最近,Liu 等提出了“纳米鱼网”模型(Nanofishnet model)(图 1G),该模型认为丝蛋白多聚丙氨酸区域形成的 β -折叠片层能够以逐层堆叠方式形成 β -纳米微晶, β -纳米微晶再通过无定形链交联形成鱼网结构,组成纳米丝纤维。 β -微晶作为纳米鱼网结构的节点,起到交联作用,能够增强丝纤维的力学性能。“鱼网”模型下丝纤维力学性能是最优的,它解释了丝纤维内部 β -折叠片层之间相互作用以及 β -纳米微晶的高密度和高有序性^[47]。

综上所述,丝纤维的层级结构对其力学性能起决定性的作用^[14,16,48]。天然丝纤维结构可分为 5 个层次,第 1 层级是丝蛋白的氨基酸序列;第 2 层级是丝蛋白肽链折叠形成的 α -螺旋、 β -折叠片层和无规则卷曲,其中 β -折叠片层采用反平行排列^[9];第 3 层级是由相邻 β -折叠片层形成的 β -微晶结构,较高密度^[49]和较小尺寸的 β -微晶能够产生更高力学性能的丝纤维^[50-52];第 4 层级由无定形链将平行于纤维轴的 β -微晶连接起来形成的纳米微纤维^[47,53-54];第 5 层级是纳米微纤维形成的天然丝^[53-55]。丝纤维的结构层层递进,决定了其优异的力学性能,对人工丝纤维的生产具有启发作用。

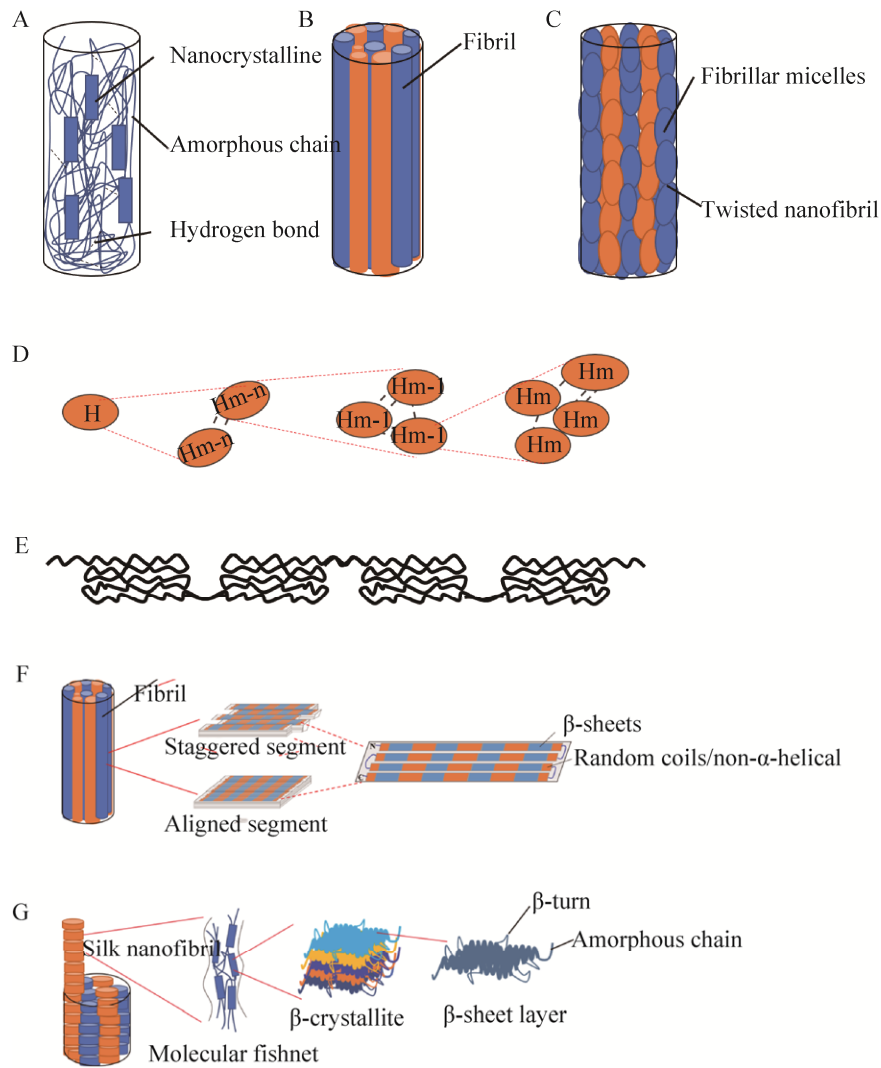


图 1 天然丝的层级结构模型示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the hierarchical structure model of natural silk. (A) Bulk network model. (B) Cylindrical fibril model. (C) Micellar model. (D) Hierarchical chain model. (E) String of beads. (F) Slab segment model. (G) Nanofishnet model.

3 人工纺丝

天然丝的综合力学性能优于绝大多数人工丝纤维。这是由于天然纺丝原液在丝腺中受到 pH 梯度、离子梯度和剪切力等因素的综合影响，而产生较好的丝蛋白结构、取向和纤维层级结构。然而现有的多数纺丝工艺较为简单、仿生程度低，得到的人工丝纤维没有精密的层级结构^[4,21]。结合本文已有的内容，对人工纺丝的纺丝原液、纺

丝方法和后处理过程等进行介绍。

3.1 人工纺丝原液

人工纺丝原液是由再生/重组丝蛋白和溶剂共同组成，影响丝的可纺性、力学性能和生物相容性^[4]。再生/重组丝蛋白获取方式主要有 3 种。一是直接解剖蜘蛛和蚕的丝腺获取。该纺丝原液性能最为优异，但是制备费时昂贵，无法大规模生产^[56]。二是利用基因工程技术生产重组丝蛋白^[57-59]，通过细菌^[17]、酵母^[60]、昆虫细胞^[61]、哺

乳动物细胞^[62]和植物细胞^[63]等多种表达系统来表达丝蛋白氨基酸序列。该方式适合于大规模生产,但是体外表达天然丝蛋白的全长序列非常困难,现有重组丝蛋白的分子量大多数偏低。而丝纤维优异的力学性能与丝蛋白完整的分子结构密不可分^[64-65]。三是使用溶剂破坏分子链间氢键,溶解天然丝获得纺丝原液。目前,溶解天然丝的溶剂主要包括有机溶剂、离子液体和无机盐水溶液等。然而,溶剂和溶解条件会导致丝蛋白不同程度的降解^[4]。此外,为了提高人工丝的力学性能和生物相容性,生物大分子与纺丝原液可以共混使用^[66]。

3.2 人工纺丝的方法

人工纺丝的方法主要有湿法纺丝、干法纺丝和静电纺丝等。

3.2.1 湿法纺丝

湿法纺丝是指将纺丝原液打入凝固浴中形成固态纤维,常用的凝固浴溶液包括钠盐、锌盐和铵盐等盐溶液,以及甲醇、乙醇和异丙醇等醇溶液。一元醇具有很强的诱导丝蛋白构象快速转变的能力,促进 β -折叠片层形成。随着含醇凝固浴侧基(R基)增加,丝纤维截面形状逐渐偏离圆形。随着凝固浴温度的升高,截面与圆形的偏离减小^[4]。再经过后拉伸过程来改善丝纤维力学性能。纺丝原液的成分和浓度,凝固浴的类型、出丝口的速度、卷绕速度,环境温度和湿度等因素共同作用决定了纤维的形态^[4]。

Xia等^[17]通过高密度发酵技术,在大肠杆菌中表达分子量为284.9 kDa的重组蜘蛛牵引丝蛋白。冷冻干燥后的重组丝蛋白溶解在六氟异丙醇溶剂中,以90% (V/V) 甲醇溶液为凝固浴,形成的纤维经过后处理拉伸为原长的5倍,得到的人工蛛丝断裂应力(508±108) MPa,延伸率15%±5%,杨氏模量(21±4) GPa。天然络新妇属蜘蛛牵引丝丝蛋白分子量250–320 kDa,断裂应力740–1 200 MPa,延伸率18%–27%,杨氏模量11–14 GPa^[67-68]。

Bowen等^[69]利用合成生物学技术,采用翻译

后共价连接的方式,利用内含子介导将两个分子量分别为290 kDa和282 kDa的重组蜘蛛牵引丝丝蛋白连接,形成556 kDa的大分子量重组蛛丝蛋白。其中六氟异丙醇作为溶剂,95% (V/V) 甲醇溶液作为凝固浴,75% (V/V) 乙醇溶液作为后处理试剂。纤维拉伸为原长6倍后,测得断裂应力为(1.03±0.11) GPa,延伸率为18%±6%,杨氏模量为(13.7±3.0) GPa,完全重现了天然丝纤维的力学性能^[69]。

对比两组研究发现,在相似的湿法纺丝方式下,随着蛛丝蛋白重复序列含量的增加,重组蛛丝纤维的力学性能得到了极高的提升。这说明蛛丝蛋白的重复序列区域含量对丝纤维的力学性能起到决定性的作用,与天然丝的研究结论相符。

3.2.2 干法纺丝

干法纺丝是将纺丝原液通过纺丝设备直接注入到空气中,蒸发纺丝原液中挥发性溶剂,从而得到固态纤维的纺丝工艺。干法纺丝模仿自然成丝过程,操作简单,成本相对较低。

Ling等^[1]将脱胶蚕丝用六氟异丙醇溶解,得到含微小原纤维的纺丝原液。该纺丝原液不仅具有高粘度和稳定性,而且还具有典型的向列液晶特性。利用干法纺丝得到再生丝素纤维的平均杨氏模量为(11±4) GPa,最高值19 GPa,已超越天然丝。该丝纤维没有经过复杂的后处理过程,性能却如此优异,关键在于其保留了天然丝的原纤维,证明了丝纤维的层级结构对性能的重要性。

Luo^[70]等利用微流体芯片纺丝,模仿天然丝腺管道的几何形状进行制模。与简易注射器设备相比,微流体芯片能够产生更好的剪切力。高浓度再生丝素蛋白水溶液作为纺丝原液,通道宽度为100 μm 和250 μm 的微流体芯片作为成丝设备,80% (V/V) 乙醇溶液作为后处理试剂,将纤维拉伸为原长的2倍。宽度100 μm 通道生产的再生纤维直径小,以再生纤维束的形式进行后处理。结果表明,250 μm 通道产生的纤维力学性能略低于天然脱胶蚕丝,而100 μm 通道产生的纤维力学性能高于天然脱胶蚕丝,最优的杨氏模量19 GPa、

断裂应力 614 MPa、伸长率 27% 和断裂能 101 kJ/kg。对比这两种再生丝纤维,宽度 100 μm 的通道产生的再生丝纤维束力学性能更优异,可能是纤维束形成的丝相当于天然丝纤维中的原纤维结构,同样证明丝纤维的力学性能和层级结构密切相关。

3.2.3 静电纺丝

静电纺丝是将纺丝原液在强电场中进行喷射纺丝的技术。典型的静电纺丝装置由高压电源、喷丝口和收集板 3 部分组成^[71]。静电纺丝原液的导电性、粘度和表面张力,丝蛋白分子量,电纺的流速、电压值、喷丝口类型和喷丝口到收集板的距离,以及电纺时的环境温度和湿度等都会影响所得纳米纤维的质量^[72]。静电纺丝得到的纤维毡具有比表面积大、孔隙率高、孔径小、力学性能好、易于表面改性等优点^[73]。

Zarkoob 等第一次将蛛丝利用六氟异丙醇溶解后,使用静电纺丝方式得到纳米纤维^[74]。将纤维素纳米晶体 (Cellulose nanocrystals, CNC) 与再生丝素蛋白水溶液超声共混,作为电纺的纺丝原液,得到性能增强的复合材料。研究表明,添加 2% (W/W) 的 CNC,纤维毡的杨氏模量从 0.44 Pa 增加到 15.17 Pa; 添加 0.5% (W/W) 的 CNC,复合材料的断裂应变和韧性均有所提高。除了 CNC 增强了纺丝原液的粘度和电导率的原因外,这还可能是由于丝素蛋白和 CNC 分子之间的相互作用导致丝纤维内部结构更优^[75]。

Hang 等^[76]利用同轴静电纺丝的方式,生产具有“皮芯”结构的再生丝胶/丝素蛋白复合纤维。静电纺丝得到的再生丝素蛋白纤维毡的断裂强度和断裂能分别为 (1.06 \pm 0.23) MPa 和 (3.74 \pm 1.75) J/kg,复合纤维毡分别为 (1.93 \pm 0.40) MPa 和(7.21 \pm 4.14) J/kg,分别增加了近 82% 和 93%。研究表明,复合纤维比再生丝素蛋白纤维具有更丰富的 β -片层结构、更好的热稳定性和力学性能。Hang 等认为丝胶蛋白的存在促进丝素蛋白脱水 and 无规则卷曲/ α -螺旋向 β -片层结构转变的过程^[76]。在纺丝原液中加入复合材料,从丝纤维层级结构考虑,也是通过

增加分子间纠缠或者提高 β -片层结构的含量,从而达到提高电纺纳米纤维毡的性能。

3.2.4 后处理过程

人工纺丝得到的纤维通常较脆,力学性能差^[70,77]。后处理操作可以调整丝蛋白取向^[78-79],减小纤维直径^[77],改善纤维的力学性能。醇溶液^[80]、水蒸汽^[81]和饱和硫酸铵溶液^[81-82]是常见的后处理试剂。通常再生丝纤维在醇溶液中拉伸后再进行浸泡处理,改善其力学性能^[80]。拉伸能够优化再生丝纤维中 β -微晶的取向,在后处理试剂中浸泡,能够诱导再生丝纤维中丝蛋白从无规则卷曲/ α -螺旋向 β -折叠片层的构象转变。

4 应用

丝蛋白纤维具有优异的力学性能、良好的生物相容性和生物可降解性,可应用在组织工程、药物传递、光学、传感、过滤和纺织等多个领域^[9]。根据应用需求的不同,对丝纤维性能有不同的侧重要求,本文主要介绍以力学性能为基础的丝纤维材料的应用。

4.1 生物医学的应用

动物丝纤维具有优越的力学性能和生物相容性,可满足组织工程支架的需求,为韧带、肌腱、骨、皮肤、神经和膀胱等组织再生提供稳定的模板。此外,支架的力学性能也会影响细胞功能和粘附、增殖等行为^[72]。Ling 等^[1]利用保留天然丝层级结构的再生丝素纤维生产三维模型,人皮肤成纤维细胞 (HDFs) 可以沿再生丝素纤维轴生长。丝纤维形成的纳米微支架,能将肌肉收缩时的机械力从肌肉传递到骨骼,可用于肌腱和韧带组织工程^[83]。电纺纳米丝素纤维支架可作为神经支架,用于狗坐骨神经的桥接^[84]。

生物相容性和降解速率是生物材料在药物传递应用中的两个重要特性,而良好的力学性能保证了药物封装的效果^[9]。动物丝纤维可提供药物传递所需的理想特性。药物与纺丝原液共混,通过同轴静电纺丝,可以形成具有核壳结构的囊状

载药纤维。这种方式可以保持药物分子的完整性和生物活性,局部接种药物,可显著减少药物的副作用^[72]。

兼具优异力学性能、低细菌粘附性和良好生物相容性的丝蛋白纤维是一种常用的手术缝合线^[84]。重组丝蛋白中可以引入对细胞生长、分化和迁移有明显作用的附加肽。丝蛋白纤维形成的纤维毡,具有良好的力学性能、生物相容性、透气性和生物降解性,能够促进组织细胞的增殖,防止伤口感染,是理想的创面敷料之一^[9]。此外,伤口敷料的纤维毡中也可以注入生长因子,加速伤口愈合。

4.2 电子产品

生活中的“电子垃圾”含有大量有害有毒的物质且不可降解,如果随意丢弃、焚烧、掩埋,会严重污染环境。利用丝蛋白纤维开发生物可降解的电子元件,可以使电子产品更加环保。用碳纳米管对丝纤维进行功能化处理,得到的复合丝纤维材料同时保持了丝纤维和碳纳米管的性能,具有较高的力学性能、超疏水性、耐溶胶性能和热敏感性。复合纤维编织成的织物对力、温度、湿度和溶剂敏感,能够应用于可穿戴电子设备和实时医疗监控设备^[85]。由于复合材料还具有生物相容性,也可以考虑应用于医用植入物^[1]。除了医学领域,复合材料在智能纺织品和智能皮肤等领域也有很大应用潜力^[83]。

4.3 纺织产品

丝蛋白纤维细腻柔软、易染色、力学性能优异、生物相容性好、抗菌且吸湿能力强,可应用于抗菌服装、运动服、军装和过滤织物等产品^[9]。转基因蚕表达蛛丝和蚕丝的融合基因,得到的重组丝蛋白纤维具有几乎能媲美蛛丝的良好应力和韧性,已经编织了围巾等衣物^[86]。丝素蛋白与聚环氧乙烷共混开发的纳米丝素纤维膜可以生产环保有效的多功能空气净化过滤装置^[87]。此外,静电纺丝得到的纳米纤维毡能够抵抗气溶胶形式等

化学物质的渗透,是制造防护服的良好材料^[72]。

总之,除了追求丝纤维更高的力学性能之外,在实际应用中我们还需要克服其他挑战。丝纤维作为药物载体时,还需要寻找更加安全可控的药物释放方式^[73]。复合丝纤维作为电子元件应用时,需要稳定测试结果,精确地控制所开发产品的性能。人工纺丝不仅需要优化生产过程,还需要模拟天然丝的层级结构来取得更高的力学性能。在此基础上,研发具有新功能的复合丝纤维材料,才能使人造丝纤维得到更广泛的应用。

5 总结

天然成丝是在 pH 梯度、离子梯度和剪切力等因素的综合影响下,对丝蛋白溶液进行分子级别精密的控制,产生具有复杂而精密的层级结构,使天然丝具有极其优异的力学性能、生物相容性和生物可降解性的过程^[57]。了解成丝机制和丝的层级结构对提高人工丝纤维的力学性能是极其必要的。人工丝纤维的综合力学性能通常低于天然丝。仿生纺丝是较好的人工成丝方式,比如利用微流体芯片可以获得较好的人工丝纤维,但是该方法较为复杂,难以规模化。另一方面,通过控制重组/再生丝蛋白纺丝原液的成分、浓度和可纺性等条件,可得到高性能的人工纤维。丝蛋白结构的完整性对其构象的调节和丝纤维的形成至关重要。现有人工丝纤维层级结构相对简单,可通过后处理一定程度上优化。人们对于天然丝产生的认识是一个不断更新的过程,对于人工成丝的方式和影响因素探索也是一个不断优化的过程,此外,人工丝纤维的应用也在不断拓展,未来将实现其更大的价值。

REFERENCES

- [1] Ling SJ, Qin Z, Li CM, et al. Polymorphic regenerated silk fibers assembled through bioinspired spinning. *Nat Commun*, 2017, 8: 1387.
- [2] Peng QF, Zhang YP, Lu L, et al. Recombinant spider

- silk from aqueous solutions via a bio-inspired microfluidic chip. *Sci Rep*, 2016, 6: 36473.
- [3] Koepfel A, Holland C. Progress and trends in artificial silk spinning: a systematic review. *ACS Biomater Sci Eng*, 2017, 3(3): 226–237.
- [4] Cao Kua, Liu Y, Ramakrishna S. Recent developments in regenerated silk fiber. *J Nanosci Nanotechnol*, 2017, 17(12): 8667–8682.
- [5] Zhang WW, Ye C, Zheng K, et al. Tensan silk-inspired hierarchical fibers for smart textile applications. *ACS Nano*, 2018, 12(7): 6968–6977.
- [6] Domigan LJ, Andersson M, Alberti KA, et al. Carbonic anhydrase generates a pH gradient in *Bombyx mori* silk glands. *Insect Biochem Mol Biol*, 2015, 65: 100–106.
- [7] Davies GJG, Knight DP, Vollrath F. Structure and function of the major ampullate spinning duct of the golden orb weaver, *Nephila edulis*. *Tissue Cell*, 2013, 45(5): 306–311.
- [8] Andersson M, Johansson J, Rising A. Silk spinning in silkworms and spiders. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8): 1290.
- [9] Koh LD, Cheng Y, Teng CP, et al. Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. *Prog Polym Sci*, 2015, 46: 86–110.
- [10] Humenik M, Scheibel T, Smith A. Spider silk: understanding the structure–function relationship of a natural fiber. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2011, 103: 131–185.
- [11] Andersson M, Holm L, Ridderstråle Y, et al. Morphology and composition of the spider major ampullate gland and dragline silk. *Biomacromolecules*, 2013, 14(8): 2945–2952.
- [12] Rising A, Johansson J. Toward spinning artificial spider silk. *Nat Chem Biol*, 2015, 11(5): 309–315.
- [13] Fink TD, Zha RH. Silk and silk-like supramolecular materials. *Macromol Rapid Commun*, 2018, 39(17): 1700834.
- [14] Yarger JL, Cherry BR, van der Vaart A. Uncovering the structure–function relationship in spider silk. *Nat Rev Mater*, 2018, 3(3): 18008.
- [15] Shehata N, Hassounah I, Sobolciak P, et al. Spider silk fibers: Synthesis, characterization, and related biomedical applications. *Mater Biomed Eng*, 2019: 289–307.
- [16] Guo CC, Zhang J, Jordan JS, et al. Structural comparison of various silkworm silks: an insight into the structure–property relationship. *Biomacromolecules*, 2018, 19(3): 906–917.
- [17] Xia XX, Qian ZG, Ki CS, et al. Native-sized recombinant spider silk protein produced in metabolically engineered *Escherichia coli* results in a strong fiber. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(32): 14059–14063.
- [18] Hijirida DH, Do Kinh G, Michal C, et al. ^{13}C NMR of *Nephila clavipes* major ampullate silk gland. *Biophys J*, 1996, 71(6): 3442–3447.
- [19] He YX, Zhang NN, Li WF, et al. N-Terminal domain of *Bombyx mori* fibroin mediates the assembly of silk in response to pH decrease. *J Mol Biol*, 2012, 418(3/4): 197–207.
- [20] Jin HJ, Kaplan DL. Mechanism of silk processing in insects and spiders. *Nature*, 2003, 424(6952): 1057–1061.
- [21] Liu YW, Ren J, Ling SJ. Bioinspired and biomimetic silk spinning. *Compos Commun*, 2019, 13: 85–96.
- [22] Eisoldt L, Thamm C, Scheibel T. The role of terminal domains during storage and assembly of spider silk proteins. *Biopolymers*, 2012, 97(6): 355–361.
- [23] Vollrath F, Knight DP. Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, 2001, 410(6828): 541–548.
- [24] Viney C. Natural silks: archetypal supramolecular assembly of polymer fibres. *Supramol Sci*, 1997, 4(1/2): 75–81.
- [25] Viney C, Huber AE, Dunaway DL, et al. Optical characterization of silk secretions and fibers. *ACS Symposium Series*, 1994, 544: 120–136.
- [26] Andersson M, Chen GF, Otikovs M, et al. Carbonic anhydrase generates CO_2 and H^+ that drive spider silk formation via opposite effects on the terminal domains. *PLoS Biol*, 2014, 12(8): e1001921.
- [27] Jaudzems K, Askarieh G, Landreh M, et al. pH-dependent dimerization of spider silk N-terminal domain requires relocation of a wedged tryptophan side chain. *J Mol Biol*, 2012, 422(4): 477–487.

- [28] Kronqvist N, Otikovs M, Chmyrov V, et al. Sequential pH-driven dimerization and stabilization of the N-terminal domain enables rapid spider silk formation. *Nat Commun*, 2014, 5: 3254.
- [29] Otikovs M, Chen GF, Nordling K, et al. Diversified structural basis of a conserved molecular mechanism for pH-dependent dimerization in spider Silk N-terminal domains. *ChemBioChem*, 2015, 16(12): 1720–1724.
- [30] Wang X, Li Y, Liu QS, et al. In vivo effects of metal ions on conformation and mechanical performance of silkworm silks. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Gen Subjects*, 2017, 1861(3): 567–576.
- [31] Zhou L, Chen X, Shao ZZ, et al. Effect of metallic ions on silk formation in the mulberry silkworm, *bombyx mori*. *J Phys Chem B*, 2005, 109(35): 16937–16945.
- [32] Wang X, Li Y, Xie K, et al. Ca^{2+} and endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase regulate the formation of silk fibers with favorable mechanical properties. *J Insect Physiol*, 2015, 73: 53–59.
- [33] Wang J, Chen GF, Meng Q. Effect of salt on minor ampullate silk spidroin modules. *Chin J Biotech*, 2014, 30(8): 1308–1317 (in Chinese).
王佳, 陈格飞, 孟清. 盐离子对次壶腹腺丝蛋白重组模块的影响. *生物工程学报*, 2014, 30(8): 1308–1317.
- [34] Breslauer DN, Lee LP, Muller SJ. Simulation of flow in the silk gland. *Biomacromolecules*, 2008, 10(1): 49–57.
- [35] Laity PR, Holland C. The rheology behind stress-induced solidification in native silk feedstocks. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11): 1812.
- [36] Xie F, Zhang HH, Shao HL, et al. Effect of shearing on formation of silk fibers from regenerated *Bombyx mori* silk fibroin aqueous solution. *Int J Mol Sci*, 2006, 38(3/5): 284–288.
- [37] Krasnov I, Diddens I, Hauptmann N, et al. Mechanical properties of silk: interplay of deformation on macroscopic and molecular length scales. *Phys Rev Lett*, 2008, 100(4): 048104.
- [38] Kaplan D, Mcgrath K. Protein-based materials. Boston: Birkhäuser, 1997: 103–131.
- [39] Termonia Y. Molecular modeling of spider silk elasticity. *Macromolecules*, 1994, 27(25): 7378–7381.
- [40] Putthanarat S, Stribeck N, Fossey SA, et al. Investigation of the nanofibrils of silk fibers. *Polymer*, 2000, 41(21): 7735–7747.
- [41] Vollrath F, Holtet T, Thogersen HC, et al. Structural organization of spider silk. *Proc Roy Soc Lond B*, 1996, 263(1367): 147–151.
- [42] Becker N, Oroudjev E, Mutz S, et al. Molecular nanosprings in spider capture-silk threads. *Nat Mater*, 2003, 2(4): 278–283.
- [43] Zhou HJ, Zhang Y. Hierarchical chain model of spider capture silk elasticity. *Phys Rev Lett*, 2005, 94(2): 028104.
- [44] Porter D, Vollrath F. Silk as a biomimetic ideal for structural polymers. *Adv Mater*, 2009, 21(4): 487–492.
- [45] Vollrath F, Porter D. Spider silk as archetypal protein elastomer. *Soft Matter*, 2006, 2(5): 377–385.
- [46] Oroudjev E, Soares J, Arcidiacono S, et al. Segmented nanofibers of spider dragline silk: atomic force microscopy and single-molecule force spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(S2): 6460–6465.
- [47] Liu RC, Deng QQ, Yang Z, et al. “Nano - fishnet” structure making silk fibers tougher. *Adv Funct Mater*, 2016, 26(30): 5534–5541.
- [48] Wu Q, Patil An, Hu F, et al. Hierarchical structure of silk materials versus mechanical performance and mesoscopic engineering principles. *Small*, 2019, 15(51): 1903948.
- [49] Nguyen AT, Huang QL, Yang Z, et al. Crystal networks in silk fibrous materials: from hierarchical structure to ultra performance. *Small*, 2015, 11(9/10): 1039–1054.
- [50] Du N, Yang Z, Liu XY, et al. Structural origin of the strain-hardening of spider silk. *Adv Funct Mater*, 2011, 21(4): 772–778.
- [51] Guo CC, Zhang J, Wang XG, et al. Comparative study of strain-dependent structural changes of

- silkworm silks: insight into the structural origin of strain - stiffening. *Small*, 2017, 13(47): 1702266.
- [52] Keten S, Xu ZP, Ihle B, et al. Nanoconfinement controls stiffness, strength and mechanical toughness of β -sheet crystals in silk. *Nat Mater*, 2010, 9(4): 359–367.
- [53] Lin NB, Liu XY. Correction: Correlation between hierarchical structure of crystal networks and macroscopic performance of mesoscopic soft materials and engineering principles. *Chem Soc Rev*, 2015, 44(21): 7917–7917.
- [54] Xu GQ, Gong L, Yang Z, et al. What makes spider silk fibers so strong? From molecular-crystallite network to hierarchical network structures. *Soft Matter*, 2014, 10(13): 2116–2123.
- [55] Chen ZW, Zhang HH, Lin ZF, et al. Programing performance of silk fibroin materials by controlled nucleation. *Adv Funct Mater*, 2016, 26(48): 8978–8990.
- [56] Laity PR, Holland C. Native silk feedstock as a model biopolymer: a rheological perspective. *Biomacromolecules*, 2016, 17(8): 2662–2671.
- [57] Huang WW, Ling SJ, Li CM, et al. Silkworm silk-based materials and devices generated using bio-nanotechnology. *Chem Soc Rev*, 2018, 47(17): 6486–6504.
- [58] Zheng K, Ling SJ. De novo design of recombinant spider silk proteins for material applications. *Biotechnol J*, 2019, 14(1): 1700753.
- [59] Zhang L, Xiang ZH, Zhao GC, et al. Functionalized genetic engineered silk-based biomaterials and their applications. *Chin J Biotech*, 2019, 35(6): 956–971 (in Chinese).
张蕾, 向仲怀, 赵盖超, 等. 基因工程功能化丝蛋白生物材料及其在生物学中的应用. *生物工程学报*, 2019, 35(6): 956–971.
- [60] Fahnestock SR, Bedzyk LA. Production of synthetic spider dragline silk protein in *Pichia pastoris*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1997, 47(1): 33–39.
- [61] Huemmerich D, Scheibel T, Vollrath F, et al. Novel assembly properties of recombinant spider dragline silk proteins. *Curr Biol*, 2004, 14(22): 2070–2074.
- [62] Lazaris A, Arcidiacono S, Huang Y, et al. Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. *Science*, 2002, 295(5554): 472–476.
- [63] Scheller J, Gührs KH, Grosse F, et al. Production of spider silk proteins in tobacco and potato. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(6): 573–577.
- [64] Copeland CG, Bell BE, Christensen CD, et al. Development of a process for the spinning of synthetic spider silk. *ACS Biomater Sci Eng*, 2015, 1(7): 577–584.
- [65] Jones JA, Harris TI, Tucker CL, et al. More than just fibers: an aqueous method for the production of innovative recombinant spider silk protein materials. *Biomacromolecules*, 2015, 16(4): 1418–1425.
- [66] Gandhi M, Yang H, Shor L, et al. Post-spinning modification of electrospun nanofiber nanocomposite from *Bombyx mori* silk and carbon nanotubes. *Polymer*, 2009, 50(8): 1918–1924.
- [67] Swanson BO, Blackledge TA, Summers AP, et al. Spider dragline silk: correlated and mosaic evolution in high-performance biological materials. *Evolution*, 2006, 60(12): 2539–2551.
- [68] Savage KN, Gosline JM. The effect of proline on the network structure of major ampullate silks as inferred from their mechanical and optical properties. *J Exp Biol*, 2008, 211(12): 1937–1947.
- [69] Bowen CH, Dai B, Sargent CJ, et al. Recombinant spidroins fully replicate primary mechanical properties of natural spider silk. *Biomacromolecules*, 2018, 19(9): 3853–3860.
- [70] Luo J, Zhang LL, Peng QF, et al. Tough silk fibers prepared in air using a biomimetic microfluidic chip. *Int J Biol Macromol*, 2014, 66: 319–324.
- [71] Cao MY, Gu F, Rao CC, et al. Improving the electrospinning process of fabricating nanofibrous membranes to filter PM2.5. *Sci Total Environ*, 2019, 666: 1011–1021.
- [72] Islam MS, Ang BC, Andriyana A, et al. A review on fabrication of nanofibers via electrospinning and their applications. *SNAS*, 2019, 1(10): 1248.
- [73] Pant B, Park M, Park SJ. Drug delivery applications

- of core-sheath nanofibers prepared by coaxial electrospinning: a review. *Pharmaceutics*, 2019, 11(7): 305.
- [74] Zarkoob S, Eby RK, Reneker DH, et al. Structure and morphology of electrospun silk nanofibers. *Polymer*, 2004, 45(11): 3973–3977.
- [75] Sanchez-Diaz S. Effect of cellulose nanocrystals addition on electrospun silk fibroin composites for the valorization of sericulture production waste streams[D]. Auburn, AL: Auburn University, 2019.
- [76] Hang YC, Zhang YP, Jin Y, et al. Preparation of regenerated silk fibroin/silk sericin fibers by coaxial electrospinning. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51(5): 980–986.
- [77] Zhang F, Lu Q, Yue XX, et al. Regeneration of high-quality silk fibroin fiber by wet spinning from CaCl₂-formic acid solvent. *Acta Biomater*, 2015, 12: 139–145.
- [78] Wei W, Zhang YP, Zhao YM, et al. Bio-inspired capillary dry spinning of regenerated silk fibroin aqueous solution. *Mater Sci Eng: C*, 2011, 31(7): 1602–1608.
- [79] Mortimer B, Guan J, Holland C, et al. Linking naturally and unnaturally spun silks through the forced reeling of *Bombyx mori*. *Acta Biomater*, 2015, 11: 247–255.
- [80] Wei W, Zhang YP, Shao HL, et al. Posttreatment of the dry-spun fibers obtained from regenerated silk fibroin aqueous solution in ethanol aqueous solution. *J Mater Res*, 2011, 26(9): 1100–1106.
- [81] Wei W, Zhang YP, Zhao YM, et al. Studies on the post-treatment of the dry-spun fibers from regenerated silk fibroin solution: post-treatment agent and method. *Mater Des*, 2012, 36: 816–822.
- [82] Yan J, Zhou G, Knight DP, et al. Wet-spinning of regenerated silk fiber from aqueous silk fibroin solution: discussion of spinning parameters. *Biomacromolecules*, 2010, 11(1): 1–5.
- [83] Naghashzargar E, Farè S, Catto V, et al. Nano/micro hybrid scaffold of PCL or P3HB nanofibers combined with silk fibroin for tendon and ligament tissue engineering. *J Appl Biomater Funct Mater*, 2015, 13(2): 156–168.
- [84] Wang R, Levi-Polyanchenko N, Morykwas M, et al. Novel nanofiber-based material for endovascular scaffolds. *J Biomed Mater Res Part A*, 2015, 103(3): 1150–1158.
- [85] Ye C, Ren J, Wang YL, et al. Design and fabrication of silk templated electronic yarns and applications in multifunctional textiles. *Matter*, 2019, 1(5): 1411–1425.
- [86] Kuwana Y, Sezutsu H, Nakajima K, et al. High-toughness silk produced by a transgenic silkworm expressing spider (*Araneus ventricosus*) dragline silk protein. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e105325.
- [87] Mehrotra S, Chouhan D, Konwarh R, et al. Comprehensive review on silk at nanoscale for regenerative medicine and allied applications. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, 5(5): 2054–2078.

(本文责编 陈宏宇)