



东南大学-金陵中学“未来卓越工程师”

论文集

2016年1月

目 录

准备篇

成果篇

1. 基于超声波干扰的防窃听录音原理研究·····8
2. 玉米皮各向异性力学性质的试验研究·····13
3. 水溶性 CdTe 量子点敏化太阳能电池的组装及性能研究·····22
4. 海藻酸钙纳米纤维研究进展·····36
5. 基于多位点膜修饰策略的细胞膜成像·····47
6. 简易红外系统的设计·····55
7. 基于双重修饰的长时间细胞膜荧光成像·····65
8. 3D 打印在汞离子检测芯片及其制备中的应用·····73
9. CdTe 量子点荧光纳米探针的制备及其细胞成像应用研究·····77
10. 简易红外语音通信系统的设计·····87
11. 双源融合成像虚拟场景监视系统研究·····95
12. 基于 CdTe 量子点的荧光纳米探针的制备及其细胞成像应用研究·····125
13. 基于手机的 WIFI 网络覆盖质量检测系统设计与实现·····132
14. 基于智能移动平台的六自由度机械臂的无线遥控实现·····149
15. 纳米粒子穿过固态纳米孔易位行为的研究·····157
16. DTMF 自动侦测系统的研究·····167
17. Android 手机游戏 2048 设计与制作·····177
18. 3D 打印在医学领域的应用现状、存在问题及前景·····189
19. 移动通信制式调研及辐射防护·····198
20. 农药检测芯片与 3d 打印·····209
21. 面向环境测量的 Arduino 智能车·····216

展示篇

准备篇

I 东南大学·金陵中学“未来卓越工程师”培养基地启动仪式

2013年5月17日下午，东南大学·金陵中学“未来卓越工程师”培养基地启动仪式在东南大学榴园宾馆新华厅举行。仪式由东南大学党委副书记兼副校长刘波主持。校党委书记郭广银，长江学者奖励计划特聘教授、交通学院院长王炜，省教育厅副厅长朱卫国，南京市教育局局长吴晓茅，金陵中学校长邹正，省市新闻媒体以及东南大学有关部门及院系负责人、金陵中学的部分师生代表等参加了启动仪式。

郭广银书记在仪式上致辞，并对联合培养基地的正式启动表示祝贺。王炜院长、朱卫国副厅长、吴晓茅局长、邹正校长以及学生代表王旭康分别在仪式上讲话或发言。郭广银书记和邹正校长代表合作双方为基地揭牌。

“卓越工程师教育培养计划”是教育部贯彻落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要》和《国家中长期人才发展规划纲要》的重大改革项目，该计划目标是用10年左右时间，为国家培养百余万高质量各类型工程技术人才，为建设创新型国家、实现工业化和现代化奠定人力资源优势。我校作为教育部、中国工程院联合实施工程教育改革实践的十所高校之一，也是教育部首批实施“卓越工程师教育培养计划”的高校。从2011年起，东南大学将在建筑土木交通类、电子信息类、机械动力类等17个专业开始试点，与知名企业共建一批“卓越工程师计划”专业，优化本、硕、博统筹方案，推进研发型、复合型、创新型高层次工程人才培养。

东南大学和金陵中学有着深厚的友谊和良好的合作，每年都有一大批金中学子进入东大学习。此次联合共建“未来卓越工程师”培养基地，是两校继2006年签订教改实验班协议之后的又一次合作。该基地以培养“国际通用型工程人才”为目标，提供优良的实验条件，并安排专家、教授指导，让部分优秀中学生在科学文化基础知识的基础上，提前接触工程技术领域，强化工程实践能力与工程创新能力，加强创新能力训练，共同培养“卓越工程师”的后备军。东大教授团将由交通学院院长王炜教授等20名教授组成。

II 东南大学——金陵中学“未来卓越工程师”培养项目 2013 级学员、导师见面会

2013 年 6 月 10 日下午，东南大学——金陵中学“未来卓越工程师”培养项目 2013 级学员、导师见面会在金陵中学科技馆报告厅举行。东南大学党委副书记兼副校长刘波，学生处副处长、招办主任蔡亮，金陵中学校长邹正、书记沈方晓等领导，东南大学的 15 位指导教师和金陵中学的 30 名学员及家长参加了本次活动。

见面会上，刘波副书记和邹正校长共同为来自东南大学信息科学与工程学院、电子科学与工程学院、自动化学院、生物科学与医学工程学院的 15 名“未来卓越工程师”导师颁发了聘书。两校也为 30 名 2013 级“未来卓越工程师”项目学员颁发证书。

刘波副书记在讲话中希望东南大学与金陵中学合作设立的“未来卓越工程师”培养项目能够培养出更多高水平的科技创新领军人才。

据悉，自 2011 年 5 月起，东南大学、金陵中学合作设立了“未来卓越工程师”培养项目基地，东南大学相关领域的专家教授可以对金陵中学成绩突出、极具潜质的学生进行直接指导。东南大学还提供实验室，让中学生们能够提前接触到工程技术领域的相关知识，强化他们的工程实践水平与创新能力。

III 东南大学——金陵中学“未来卓越工程师”培养项目开题仪式

2013年12月21日，“东南大学——金陵中学未来卓越工程师”培养项目的第一批学员在东南大学四牌楼校区礼东教室举行开题仪式。



开题仪式分两个阶段。第一阶段，全体学生按信息和电子方向、生医和自动化方向分成两个答辩小组。按现场抽签顺序分组展示开题报告，同组的每位同学上台陈述，并回答现场评委老师提问。自今年6月10日起，首批30名同学开始与导师及其团队建立联系，利用今年暑假和本学期上半学期的时间，对自己选择研究方向的科学知识进行初步了解和学习，再在导师的帮助下完成各自的开题报告。在开题报告会上，30位同学就课题的研究背景，研究方法，研究安排，成果展望等方面进行了小组陈述，在场的专家对各小组报告逐一点评，就开题报告的题目表述，研究计划安排的合理性，研究所需涉及到的学科知识储备等方面提出修改意见。



开题的第二阶段由东南大学学生处副处长蔡亮老师主持，两个答辩小组的组长，孟桥老师和金立左老师对学生的开题情况进行了点评。两位导师祝贺同学们成功开题，赞赏同学们和导师之间的良好互动，并希望同学们进一步获取相关专业知识，学会更准确的科学表达，从实际应用的角度阐述课题的来源，并注重研究过程的科学性。导师们还将《东南大学学生课外作品论文集》送给同学，作为同学们下一步研究的参考资料。

最后，东南大学学生处孙莉玲处长，金陵中学孙夕礼校长对同学们提出了殷切的希望。孙处长充分肯定这种基础教育和高等教育联合培养模式，还为同学们介绍了国家的“卓越工程师”计划，她相信同学从现在开始打下良好的基础，未来一定会成为卓越工程师。孙校长希望学生们能认识到研究的过程比研究结果重要，希望同学们初步掌握科学研究的方法和手

段，充分享受研究的过程。



附：

序号	姓名	专业方向	导师	设计（论文）题目
1	惠永靖	电子	王著元	量子点敏化太阳能电池
2	孙翎瑄	电子		基于量子点的荧光纳米探针的制备及其细胞成像
3	徐子璇	电子		应用研究
4	黄磊	信息	金石	Android 软件开发之 2048
5	于茜	信息		单片机的应用与开发
6	江春辉	信息	潘志文	关于手机 WiFi 信号检测的研究
7	杨珉	信息		
8	刘业扬	信息	陈继新	微波技术在生活中的应用与防护
9	傅泳淦	信息		
10	沈琤	信息	张圣清	红外光通信系统
11	吴沁怡	信息		
12	朱梓轩	信息	孟桥	DTMF（双音多频）实时侦测系统
13	徐逸凡	信息		
14	戴毅巍	信息		
15	余同洲	信息	宋宇波	一种基于谐波干扰的防窃听装置
16	傅岚清	信息		
17	卓松丞	生物医学	李志勇	天然材料力学性能的研究
18	高明玉	生物医学		
19	桑娜	生物医学	吴富根	一种基于乙二醇壳聚糖的新型细胞膜成像试剂
20	施天媛	生物医学		
21	孙佳歆	生物医学	刘宏	3D 打印及其应用
22	杨媛平	生物医学		
23	张弘毅	生物医学	杨芳	智能高分子纳米材料在生物医学中的应用
24	李子晗	生物医学	赵远锦	3D 打印在医学领域的应用与前景
25	高震宇	自动化	钱坤	基于 Arduino 遥控智能车的有害气体监测
26	周啸峰	自动化		
27	贺隽达	自动化	谈英姿	六自由度机械臂的智能机器人无线操控
28	张明辉	自动化		

29	夏玉文	自动化	金立左	双源融合成像虚拟场景监视系统研究
30	张北辰	自动化		

成果篇

基于超声波干扰的防窃听录音原理研究

傅岚清*, 余同洲
(金陵中学, 南京)

摘要: 随着现代通信技术的发展, 智能手机、数字录音笔等多种数字设备在日常生活中随处可见。一些不法分子会利用这些数码产品进行窃听, 窃取个人隐私, 进而进行敲诈勒索。常见的防窃听录音技术有音频干扰或电磁波干扰方式。音频干扰通过产生噪音的方式干扰录音, 虽可以有效干扰录音但其自身产生的噪声也严重影响正常的讲话交流; 电磁波干扰通过发射大功率电磁波导致数码设备产生信号干扰破坏其录音功能, 但现有数码录音设备都有抗干扰电路设计从而效果有限。本文提出了一种基于超声波干扰的新型录音干扰方法, 通过向录音窃听设备发送大功率超声波, 导致录音窃听设备在接受信号时因波形限幅导致非线性失真, 从而在人耳可收听的 20-18k 赫兹频段范围内产生干扰信号, 破坏录音窃听设备的录音功能。其优点是会影响正常的讲话交流。本文给出了超声波干扰的原理分析及其相关仿真实验、实验结果分析表明该设备在半径 5 米内能有效地实现对录音窃听设备进行干扰防窃听。

关键词: 录音窃听, 音频干扰, 波形失真

1 前言

1.1 课题背景

随着现代通信技术的发展, 智能手机、数字录音笔等多种数码设备在日常生活中随处可见。一些不法分子会利用这些数码产品进行窃听, 窃取个人隐私, 进而进行敲诈勒索。在高度保密的场合, 通常都会要求相关人员上交手机。但由于这些数码设备体积小, 携带方便, 不易检测, 因此相关的窃听行为难以防范, 从而造成个人的隐私泄露或商业机密的外泄。

现有的常见方法是通过播放一些背景噪声来湮没语音信号^[1]。但是这种方法受环境条件的制约, 同时也会给人带来干扰和不便。如何直接阻塞声频信号而又不干扰正常交流, 无论现场环境如何, 都可以在不被觉察的情况实现录音设备的防窃听干扰, 是本课题要解决的主要问题。

1.2 研究现状

常见的防窃听方式通常采用物理隔绝的方式进行^[2], 即采用封闭空间隔绝以防止不法分子在外界进行窃听, 而对内部交谈者或安放窃听设备的房间进行防窃听干扰的研究几乎没有文献讨论。通过调研大体可以总结出有常见对录音窃听进行防窃听录音的方法有音频干扰或电磁波干扰方式两种^[2-5]: 音频干扰通过产生噪音的方式干扰录音^[2-3], 虽可以有效干扰录音但其自身产生的噪声也严重影响正常的讲话交流; 电磁波干扰通过发射大功率电磁波导致数码设备产生信号干扰破坏其录音功能^[4-5], 但现有数码录音设备都有抗干扰电路设计, 其线路很难感应相应的电磁信号, 因此效果有限。

本项目提出了一种新型的防窃听录音的方法, 该方法采用超声波进行干扰。通过向录音窃听设备发送大功率超声波, 导致录音窃听设备在接受信号时因波形限幅导致非线性失真, 从而在人耳可收听的 20-18k 赫兹频段范围内产生干扰信号, 破坏录音窃听设备的录音功能。与现有的解决思路相比, 本项目提出的基于超声波的防窃听录音方法有很好的使用价值, 由于在空中发送的是超声波, 而超声波的频率在人耳接收范围之外^[6], 因此不会影响正常的讲话交流。

1.3 主要研究内容

本项目成员共有两人,其主要研究内容是在指导教师的指导下学习相关的理论知识及专业工具的使用,进行相关的仿真及开发实现。其项目分工如下:本人负责的工作是研究超声波干扰的基本原理,通过理论分析及工具仿真证明本项目技术方案的可行性;本项目的另一成员则负责完成原型设备相关硬件及软件的开发实现,并完成相应的测试工作。

本论文的组织架构如下:第2章讨论了基于超声波干扰的相关背景知识及技术原理;第3章通过 MATLAB 及 SIMULINK 仿真证明了其技术原理的正确性及可行性,仿真测试结果表明该方案可以达到预定效果,在没有觉察的情况下对窃听设备实施录音干扰,从而有效的起到防窃听的保护。

2 技术原理

2.1 录音原理

常见的数码录音笔及智能手机,其录音原理方式基本相同。以数码录音笔为例,与传统录音机相比,数码录音笔是通过数字存储的方式来记录音频的^[7]。数码录音笔首先通过话筒将声频信号转换成电信号。由于人耳只能听到 5 赫兹到 20k 赫兹频率的声音,因此数码录音笔会对转换后的电信号进行过滤,仅仅保留人耳能够收听到的频率信号。为了保证声音的完整性,现有的数码设备里的芯片对电信号过滤的频率范围是从 0 赫兹到 24k 赫兹。进一步,数码录音笔会通过模数转换芯片(A/D)对模拟信号进行采样,其采样的频率通常为 64k 赫兹。通过采样,数码录音笔将原始的模拟信号转换成数字信号,并通过一定的压缩算法将数字信号存储下来。

2.2 超声波

人类耳朵所能听到声音的最高频率是 20k 赫兹,高于这个频率的声波或振动我们称为超声波^[8],超声波被广泛应用于众多领域,比如医疗诊断、远程测距、金属探伤或工件清洗等。

根据上面的录音原理可知,虽然现有的数码录音设备会对接受的音频信号进行过滤,但仍有一部分频率在 20k 赫兹到 24k 赫兹间的超声波会被数码录音设备接收,但存在的问题是虽然这些高频率的声波会被存储下来,但人耳依然无法听到,也不会对被录制的声音产生干扰。

2.3 非线性失真

经过文献调研我们发现,数码录音设备在录制设备时通常会出现非线性失真,即采集的信号波形会发生失真和非线性畸变^[9],其非线性的变化可以导致接收的信号出现新的谐波成分,从而改变原有信号的频率。

常见的非线性失真有谐波失真、幅度失真、频率响应失真以及相位失真。其中幅度失真包括截止失真和饱和失真,两者会可能出现。当输入的信号幅度过大时,电路就会产生限幅现象从而导致幅度失真现象的出现,从而产生原来不存在的谐波分量。

因此,一个直接的想法就是我们是否可以通过发送大功率的超声波,导致窃听设备的接收电路由于信号饱和导致限幅,从而使得接收的信号出现幅度失真现象,进而在人耳可听到的频率范围产生谐波分量,进而掩盖原有正常的语音信号。

3 仿真设计

3.1 MATLAB 仿真

在导师的指导下,我们采用了一种常用于数据分析和数值计算的仿真工具 MATLAB^[10]对我们的想法进行了验证。其仿真设计思路如下(其完整 MATLAB 代码见附录):

用一个频率为 20k 赫兹的正弦波(y)模拟我们发送的超声波,其幅值设为 10:

$$y=10\cos(20t) \quad (1)$$

用一个频率为 1k 赫兹的正弦波(y1)模拟人类可听的声音（出于方便，我们将 20k 和 1k 简化为 20 和 1，这并不会影响分析结果）：

$$y1=\cos(t) \quad (2)$$

对两个信号进行叠加：

$$y2=y+y1 \quad (3)$$

然后对 y2 进行限幅，我们假设幅度最大不超过 5，其 MATLAB 代码如下：

```
for i=1:50
    if y2(i)>5
        y2(i)=5;
    elseif y2(i)<-5
        y2(i)=-5;
    end
end
```

最后我们分别观察信号 y、y1 及 y2 的信号波形，如图 1 所示：

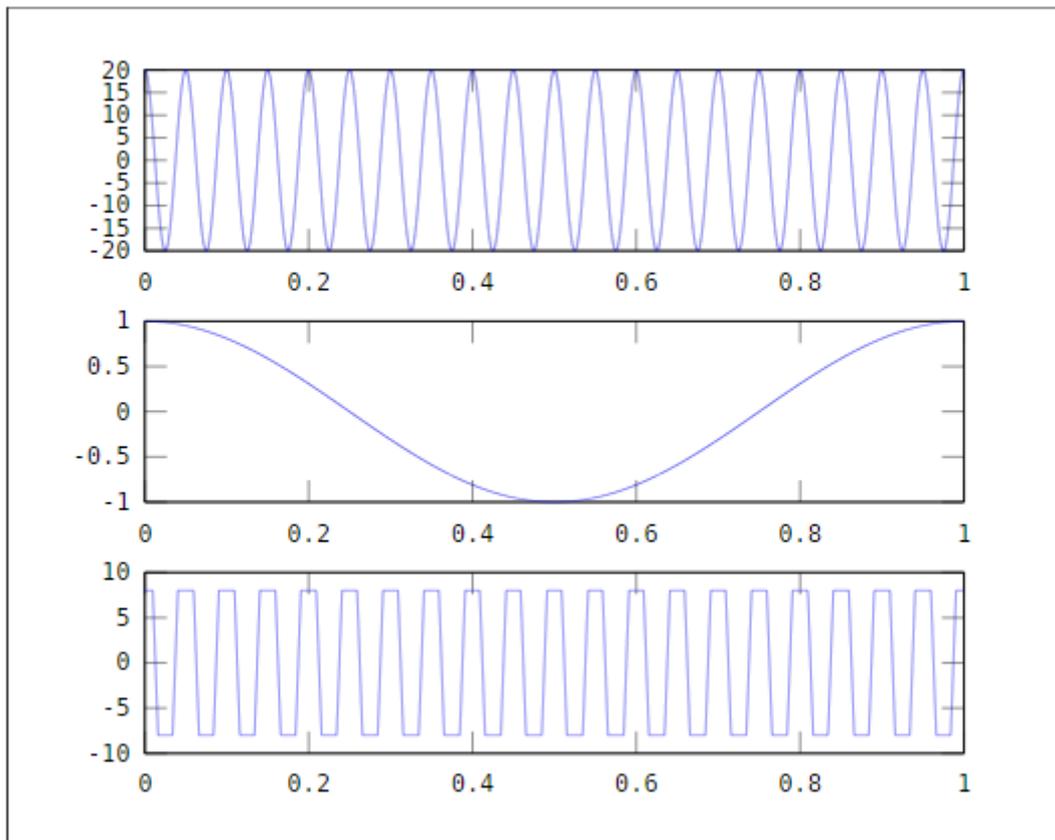


图 1 仿真信号波形

接着计算其对应的频率分量并进行观察，其代码如下：

```
mag=abs(fft(y));%求幅值
f=(0:length(y)-1)*fs/length(y);%进行对应的频率转换
subplot(3,1,1);plot(f,mag);ylabel('y')
```

```
mag1=abs(fft(y1));%求幅值
f1=(0:length(y1)-1)*fs/length(y1);%进行对应的频率转换
subplot(3,1,2);plot(f1,mag1);ylabel('y1')
```

```

mag2=abs(fft(y2));%求幅值
f2=(0:length(y2)-1)*fs/length(y2);%进行对应的频率转换
subplot(3,1,3);plot(f2,mag2);ylabel('y2')

```

其输出波形如图 2 所示：

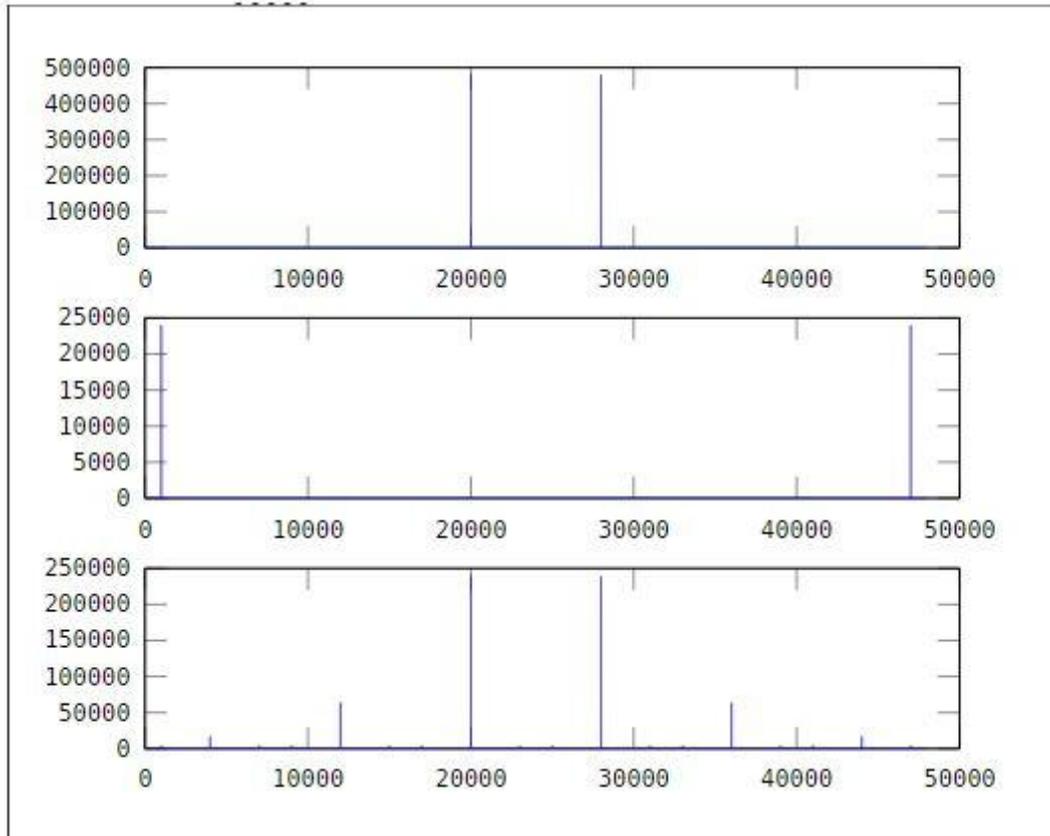


图 2 波形的频率分量

从波形我们可以看出，由于限幅的存在，叠加的信号不仅有原有的 20k 赫兹超声波及 1k 赫兹声音的频率分量，在低于 20k 赫兹的频率范围内出现了其他频率分量，其幅度虽然原小于超声波的幅度，但大于声音幅度，足可以掩盖原有的声音。

3.2 SIMULINK 仿真

进一步的，我们又采用 SIMULINK 软件搭建仿真环境来验证其方案的有效性。SIMULINK 是一种用于如通讯、控制、信号处理、视频处理和图像处理系统等进行设计、仿真、执行和测试的仿真软件^[11]。

该软件可以把输出结果通过电脑的喇叭进行播放，从而可以观测到实际的收听效果。其仿真架构如图 3，其中 Sine Wave1 是发出的超声波，Sine Wave2 是正常的声音信号。Scope 则是两个信号混合后的输出，可用喇叭进行播放；Scope1 则是正常声音信号播放，用于比较干扰前和干扰后的效果。

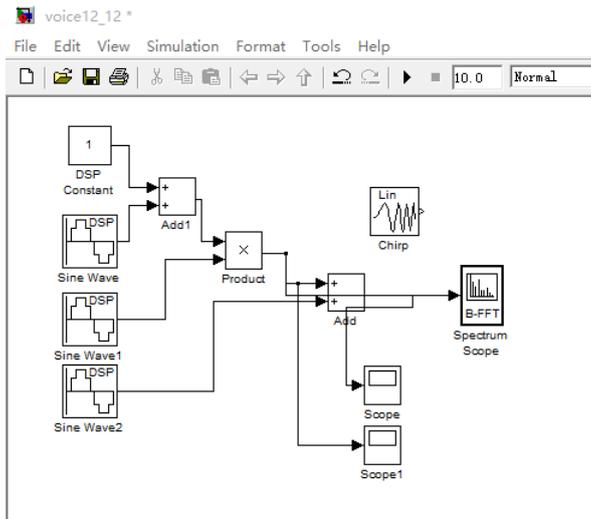


图 3 Simulink 仿真框图

经仿真测试表明,原有的声音信号在经过幅度远大于声音信号幅度的超声波信号叠加限幅后,其声音被失真产生的谐波分量覆盖,达到了抗窃听录音干扰的效果。

结 论

本文提出了一种基于超声波干扰的新型录音干扰方法,通过向录音窃听设备发送大功率超声波,导致录音窃听设备在接受信号时因波形限幅导致非线性失真,从而在人耳可收听的 20-18k 赫兹频段范围内产生干扰信号,破坏录音窃听设备的录音功能。其优点是不会影响正常的讲话交流。

本项目成员共有两人,其主要研究内容是在指导教师的指导下学习相关的理论知识及专业工具的使用,进行相关的仿真及原型设备的开发实现。其项目分工如下:本人负责的工作是研究超声波干扰的基本原理,通过理论研究及工具仿真证明本项目技术方案的可行性。本项目的另一成员在此基础上设计相关原型设备的实现方案,负责完成原型设备相关硬件及软件的开发实现,并完成相应的测试工作。

本文讨论了基于超声波干扰的相关背景知识及技术原理。通过 MATLAB 及 SIMULINK 仿真证明了其技术原理的正确性及可行性,仿真测试结果表明该方案可以达到预定效果,在没有觉察的情况下对窃听设备实施录音干扰,从而有效的起到防窃听的保护。

致 谢

在项目结束之际,我要向教导我的指导教师宋宇波、我的队友余同洲以及陪伴在我身边的父母老师表达我衷心的感谢。

首先,我要向一直支持我关心我的指导教师宋宇波老师。宋老师经验丰富,做事认真负责,在整个项目研究的过程中,十分关心我的进展,常常抽时间询问相关情况,给出了十分重要的指导。

此外,还要感谢同一项目组的余同洲同学,在项目研究过程中密切合作,相互交流,让我事半功倍,效率倍增。和他的讨论让我受益匪浅,拓宽了思维、改变了视角,更加清晰化了思维。

最后,谨以此文先给我挚爱的父母和老师。感谢他们一贯的鼓励和支持,让我不断成长,有机会为整个社会做出贡献。

Abstract: With the development of modern communication technology, digital devices such as smart phones and digital voice recorder can be found everywhere in our daily life. Some criminals make use of these digital devices to eavesdrop on others privacy and then to extortion. Common anti-recording methods are audio interference or electromagnetic interference. Audio interference generates audio noise to interfere the recording procedure, but it will also influence the normal conversation. Electromagnetic interference emits high-power electromagnetic wave to interfere the recording procedure, but it has limited effect for that the digital devices have anti-interference circuit design. This paper proposed a novel audio eavesdropping interference method with ultrasonic interference. It sends high-power ultrasonic to digital recording devices, cause nonlinear distortion of received signal caused by waveform amplitude limited, and interfere the audio signal in 20hz-18khz spectrum range. The advantage of this novel method is that it does not affect the normal conversation. Furthermore, this paper presents the principle analysis and related simulation. A prototype of the audio eavesdropping interference device has been developed. The experiments show that the developed device can effectively interference the audio eavesdropping at a range of 5 meters.

Key words: Audio eavesdropping; Audio interference; Waveform distortion

参考文献:

- [1] 掩蔽效应_百度百科[EB/OL]. [2014-12-29]. <http://baike.baidu.com/view/829792.htm>.
- [2] 聂正南, 翟晓军. 声频定向驱散系统原理研究[J]. Science& Technology Vision, 2012(13): 20–21.
- [3] 录音设备能录下超声波次声波么? | 问答 | 果壳网科技有意思[EB/OL]. [2014-10-17]. <http://www.guokr.com/question/479764/>.
- [4] 蒲刚, 姜丽峰. 一种数字式声频定向扬声器调制方法[J]. Audio Engineering, 2013, 37(3): 13–17.
- [5] 林科业, 孙番典, 刘诗伟等. 一种基于超声波的窃听方法[J]. Modern Electronics Technique, 2012, 35(3): 196–198.
- [6] 张杨. 声频定向系统设计[D]. 国防科学技术大学, 2011.
- [7] 张莹. 微型声频定向换能器电学特性分析与驱动电路设计[D]. 电子科技大学, 2010.
- [8] 李应涛, 徐利梅, 焦丽华. 声频定向超声波扬声器的设计分析[J]. AUDIO ENGINEERING, 2007, 31(5): 25–29.
- [9] 焦丽华. 声频定向超声波换能器的研究[D]. 电子科技大学, 2007.
- [10] 韩斌, 吴亚锋, 纪鸣. 基于超声转换的音频信号定向传播[J]. COMPUTER SIMULATION, 2006, 23(10): 329–332.
- [11] 纪鸣. 声频信号定向传播技术研究[D]. 西北工业大学, 2005.
- [12] 吴斌, 王智, 金山等. 用于激励超声导波的任意波形发生器[J]. JOURNAL OF BEIJING POLYTECHNIC UNIVERSITY, 2002, 28(4): 389–393.

玉米皮各向异性力学性质的试验研究

高明玉
(金陵中学, 南京)

摘要: 目的: 研究不同含水量的玉米皮以及玉米皮各向异性的力学特性。方法 收集玉米皮 2 片分别制作 20 个样本分成 2 组, 其中一组, 以玉米皮的径向为 0° , 按照 10° 的增量, 逆时针依次截取 0° 、 10° 、 20° 、 30° 、 40° 、 50° 、 60° 、 70° 、 80° 和 90° 测量其杨氏模量和断裂强度, 并将其中一个断裂后的样本利用扫描电镜观察其结构; 另外一组, 只截取 0° 和 90° 样本, 依次在室温下放置 0 天 (样本制作当天)、1 天、2 天、3 天、4 天, 通过测量其含水量并测量其杨氏模量和断裂强度。结果, 力学实验表明: 随着角度的增加, 杨氏模量和材料强度均不断增大。随着含水量的变化, 杨氏模量并没有太明显的规律, 但是断裂强度随着放置天数的增加而增加。

电镜扫描的结果表明, 玉米皮微结构是单向聚合纤维。结论 玉米皮是单向的纤维增强复合材料, 玉米皮呈现典型的各向异性力学特征, 强度与含水量成反比关系。意义 该论文的研究对仿生材料的制作具有一定的参考价值。

关键词: 玉米皮; 力学特性; 微观结构; 杨氏模量; 强度

1 绪论

从环保与可持续发展角度上考虑, 天然植物纤维和可再生纤维的开发与应用将会是今后发展的必然趋势。据统计, 自然界每年以纤维素形式存在的资源总量多达十亿吨, 远远超过了地球上现存的石油和煤炭总储量, 然而, 大量的天然纤维素在生物循环中没有得到利用而被浪费, 所以, 必须重视并加强对自然界纤维素等植物资源的研究与利用, 充分发掘现有自然资源的循环利用。比如, 农业废弃物的回收利用已经成为发展环保纤维和生态纺织品的一个重要方向天然纤维可以从 2 个方面进行开发: 一是从自然界中直接获取, 二是从农业废弃物中提取。此外, 天然纤维具有可降解、环保的优势, 得到了越来越多的关注和研究, 尤其是在聚合物基复合材料领域。目前, 已经成功开发出来的新型植物纤维主要有香蕉纤维、海丝纤维、棕榈纤维、竹纤维等。棕榈纤维的力学指标具有分散性, 强度和伸长率随拉伸隔距的增大而变小, 而杨氏模量则呈相反趋势, 由于棕榈纤维的结构特殊, 强度和模量整体呈现随纤维直径增大而变小的特点。当前市场上, 竹纤维原料属于天然可再生的环保资源, 竹纤维有明显不同于棉、木型纤维素纤维的独特风格, 强力好, 耐磨性、吸湿性、悬垂性俱佳, 手感柔软且具有天然的抗菌功能, 因而具有较高的应用价值与极大的市场需求。

根据当前新材料的需求不断扩大以及天然纤维材料的研究与应用范围进一步增大的情况, 本课题选取了具有与竹纤维、棕榈纤维的单向纤维增强材料相类似的玉米皮纤维。作为新材料, 玉米皮纤维领域的目前研究较少, 具有较高的潜在研究价值。作为农业废弃物, 玉米皮 (纤维) 来源于天然玉米资源, 原料来源充足, 在全世界热带和温带范围内广泛种植。但是由于缺少对玉米皮的研究, 玉米皮纤维的利用价值与利用方式并没有形成系统, 造成当前农业上对与玉米皮的利用率较低的现象。但日常生活中可以发现玉米皮特性优良, 有着明显的各向异性特性, 并且在纵向上具有较好的韧性, 作为玉米果实的保护材料, 玉米皮也具有一定厚度与强度, 可变废为宝, 是一种新型的环保天然纤维素纤维。

本课题采用实验结果与数据分析结合的方式对玉米皮的各向异性力学特性进行研究。进行力学特性测试时, 采用控制变量法以及设置对照组的试验方法, 将放置不同天数后玉米皮的含水量以及玉米皮与径向形成的夹角作为变量进行试验, 力学实验表明: 随着角度的增加, 杨氏模量和材料强度均不断增大。随着含水量的变化, 杨氏模量并没有太明显的规律,

但是断裂强度随着放置天数的增加而增加。电镜扫描的图片显示玉米皮为单向聚合的维管束，玉米皮正面为相间的条状凸出与沟槽，呈明暗相间的图象。玉米皮的反面生有不同向的纤毛，造成玉米皮在宏观上触摸时的粗糙感。本课题创新之处在于研究玉米皮各向异性，并且将宏观上所得到的玉米皮力学特性与其微结构相结合分析。

该课题得到初步结论，玉米皮是单向的纤维增强复合材料，玉米皮呈现典型的各向异性力学特征，杨氏模量与强度与径向的夹角成正比关系。玉米皮的强度与含水量成反比关系，杨氏模量与含水量大体呈反比关系。该课题的研究对玉米皮纤维的实际应用以及仿生材料的制作具有一定的参考价值。

2 实验部分

2.1 实验物料

实验物料为南京江宁产出的玉米，成熟度良好，大小未分级。经采摘、测量、剪切，并完好无损。

2.2 实验仪器

- 1) 游标卡尺（精度 0.02mm）
- 2) 电子称（精度 0.001g）
- 3) instron 万能试验机图（1）
- 4) 扫描电镜（SEM）（东南大学生医学院一楼仪器分析中心）



图 1: Instron 万能试验机

2.3 试验方法

2.3.1 材料的处理

从超市或菜市场获取玉米皮若干，根据上述实验内容，样本制作如下：

选取 2 片玉米皮，于同一时间，将每片沿着与径向成夹角为 0°、10°、20°、30°、40°、50°、60°、70°、80°、90° 剪切得到夹角对照组试验样本共十个。再将放置不同天数的玉米皮沿着平行于径向和垂直于径向方向剪切共 5 组 10 个样本。（图 2.3.1.1 图 2.3.1.2）

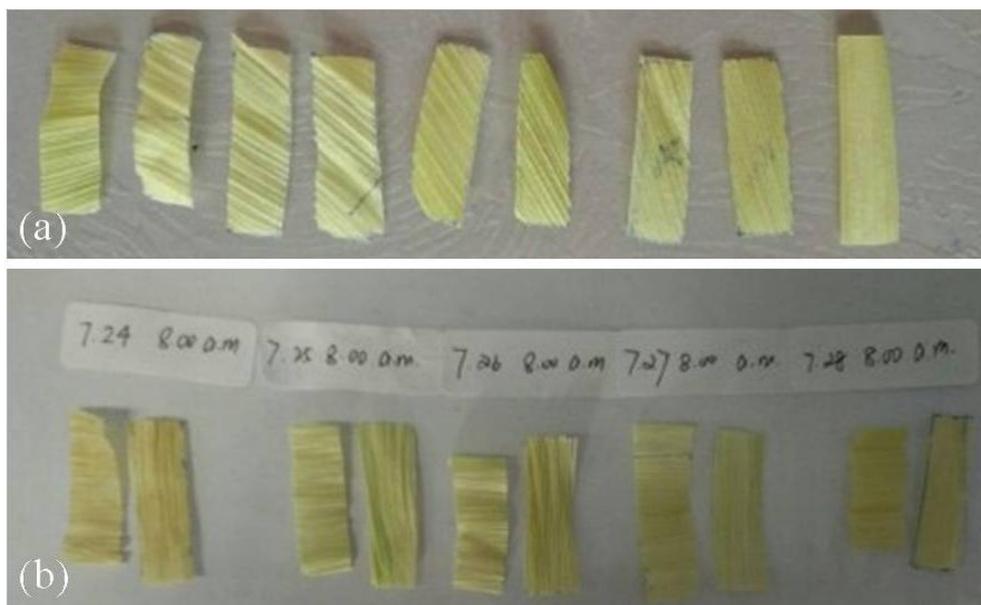


图 2. (a)不同角度的玉米皮样本 ;(b)不同含水量的玉米皮样本

2.3.2 实验步骤

(1) 测含水量的变化：第一步，将所有玉米皮按照下图规格剪裁，制作完所有试验样本后，立即用电子天平秤的所有样本的重量，放置 0-4 天的样本重量取每组两个样本重量的平均值。通过和放置不同天数的样本对应的重量对比，获得含水量变化。而后利用材料试验机对该组实验样本进行力学测试，加载速率为 2.0 mm/min，得到玉米皮样本相应的力学行为。

宽度/厘米	2
长度/厘米	4

放置天数/天	4	3	2	1	当天
质量/克	0.460	0.575	0.841	0.910	0.975

(2) 测与径向夹角不同的变化：利用材料试验机对角度组 10 个实验样本进行力学测试，加载速率为 2.0 mm/min，得到玉米皮样本相应的力学行为，记录数据。

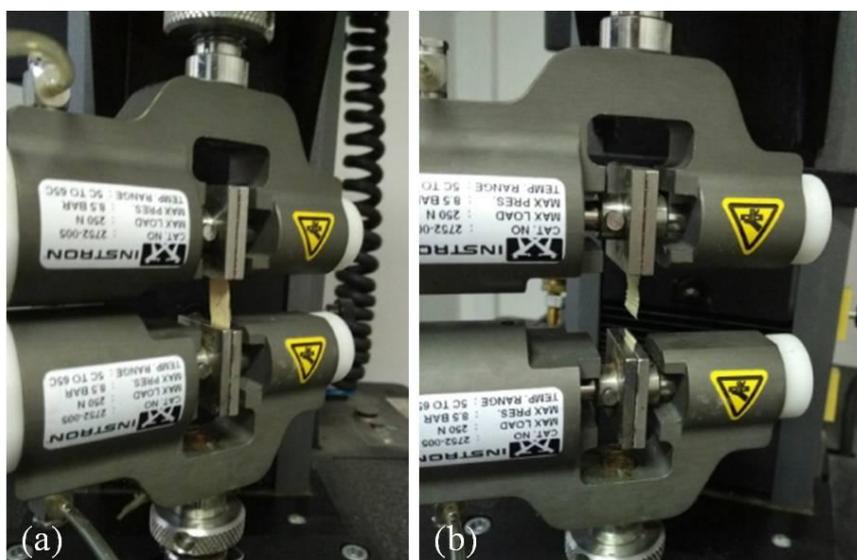


图 3 (a) 正在进行拉伸试验玉米皮样本
(b) 拉伸结束后断裂的玉米皮样本

(3) 然后对所有的样本进行烘干处理，将样本中的水分尽量除净。

(4) 分别选取具有代表性的拉断的 0°、10°、20°、30°、40°、50°、60°、70°、80°、90° 其中 3 个样本，在电镜扫描实验室进行微结构观测，采集样本不同方向的微结构图像，包括正面、反面、断裂面。

3 结果与分析

3.1 电镜扫描的结果与分析

玉米皮材料结构为叶窄而长，边缘波状，于茎的两侧互生。叶片线形至线状披针形，长约 40-60 厘米，宽 4-8 厘米，先端渐尖，基部圆或微呈耳形，表面暗绿色，背面淡绿色，两面带纤毛，中脉较宽，白色。经过电镜扫描观察，玉米皮正面呈较光滑的褶皱状，有独立紧密排列的近似几何形状单元格，正面纵向呈明暗相间即凹凸相间的条状（图 4），背面则较为粗糙，与正面相近有凹凸相间的条状区域，不同的是带有贴近玉米皮表面、不同向生长

的纤毛。(图 5)。

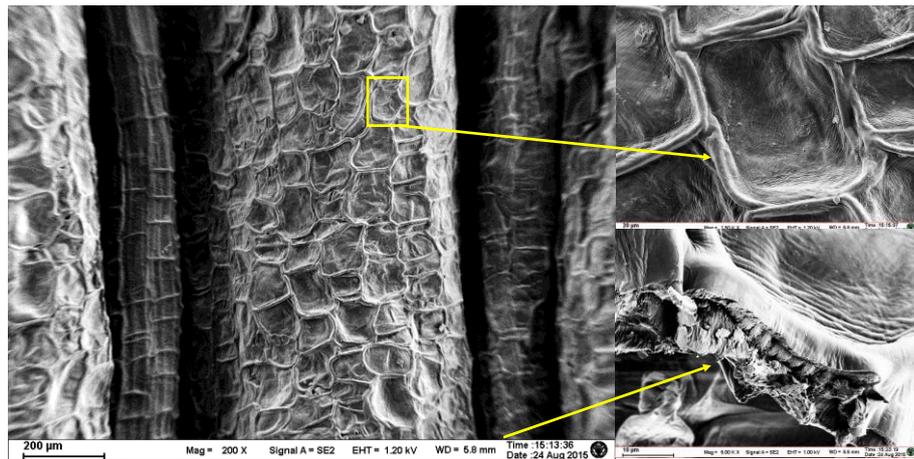


图 4: 玉米皮微结构: 玉米皮正面

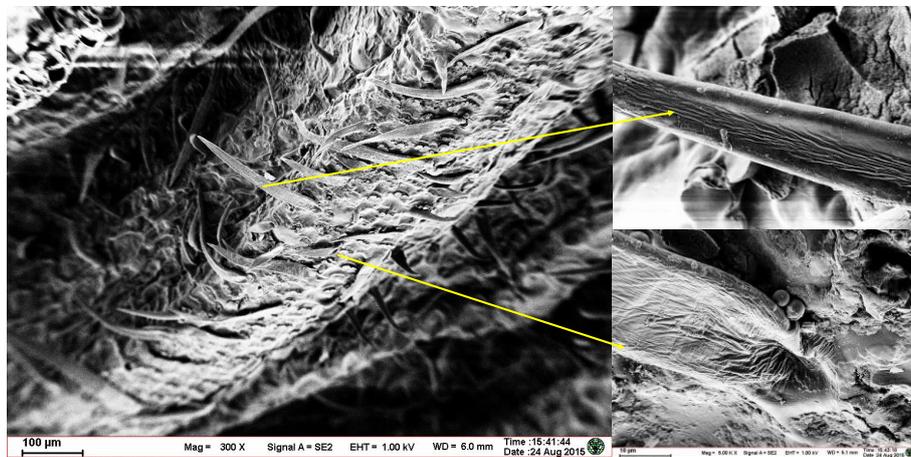


图 5: 玉米皮微结构: 玉米皮反面

通过玉米皮的截面图(图 6)观察,玉米皮微观上由横截面大小不同中空的束状纤维管聚合而成,维管束的横截面近似呈圆形,维管束之间紧密排列,从而使玉米皮具有较高强度的抗拉性与韧性。维管束中的纤维中空,新鲜时纤维管内含水,对玉米皮的受力易造成受力不均。聚合物于不同条件下会分别表现出固体和液体的性质,即表现出弹性和粘性。玉米皮中的纤维管束结构决定玉米皮具有粘弹性。

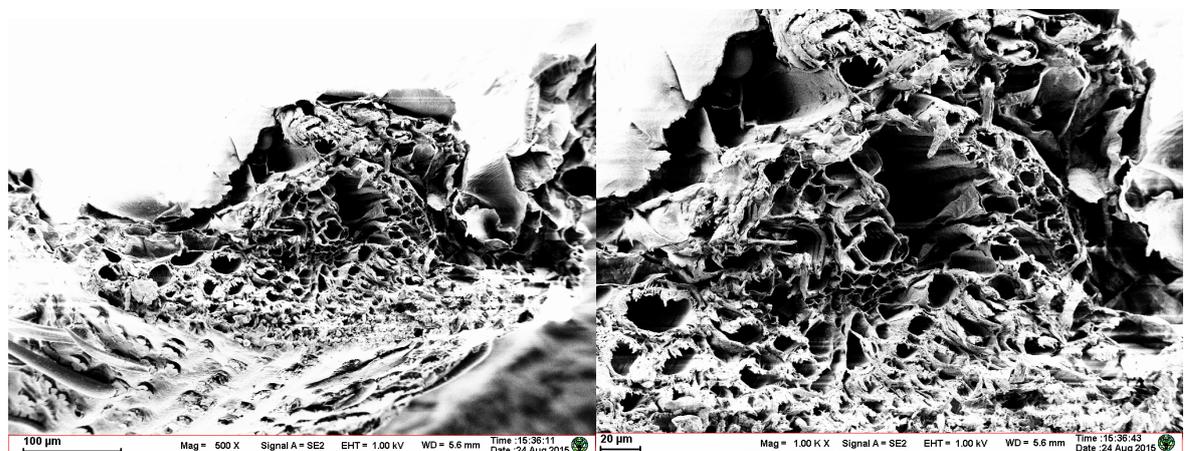


图 6: 玉米皮的断裂面微结构

3.2 力学性质的结果与分析

3.2.1 玉米皮含水量

对长度为 4 厘米，宽为 2 厘米，在 30℃ 的室温下放置 4 天、3 天、2 天、1 天、0 天进行力学特性的测试，得到结果玉米皮材料的应力-应变（图 7），杨氏模量、强度（图 8）。由于玉米皮材料在屈服点之后发生急速形变，因此将材料的抗拉强度与断裂强度统称为强度进行讨论。

从放置 4 天到当天的玉米皮应力-应变曲线图可见，随着玉米皮材料的含水量不断降低，材料的断裂强度不断降低。其中，放置四天即干燥的玉米皮的应力-应变曲线可看做弹性变化，弹性模量为 1.25655Mpa。其强度最大约为 0.69Mpa，从微观结构可知，玉米皮干燥时其纤维管束内无水分，具有弹性模量大，塑性形变小，强度高等特点。其他四个样本的应力-应变曲线在开始的一定范围内可视作直线，及弹性形变。强度与含水量大小呈反比。由于玉米皮微观结构是内含水的纤维管束而决定其具有粘弹性，在图线中出现屈服现象，当应力超过弹性极限后，变形增加较快。当应力达到一定值时，应力增加在微小范围内波动，而出现形变却急速增长。

由图可知，玉米皮的强度与玉米皮的含水量呈反比关系，即随着放置天数的增加，玉米皮含水量不断降低，玉米皮断裂时的应力大小递增，即玉米皮的抗拉强度不断增加。并且随着含水量的降低，相同长度的玉米皮样本可拉伸的最大长度也在递增。

而玉米皮的杨氏模量与玉米皮的含水量从放置 0 天、2 天、4 天看成反比关系，但在放置 1 天、3 天时出现大幅增长。产生该现象的原因是实验中实验的样本较少，缺少实验的普遍性，损在一定的特殊性。可以反思，在实验过程中应该进行多个样本的测试，得到更具有普适性的结论。

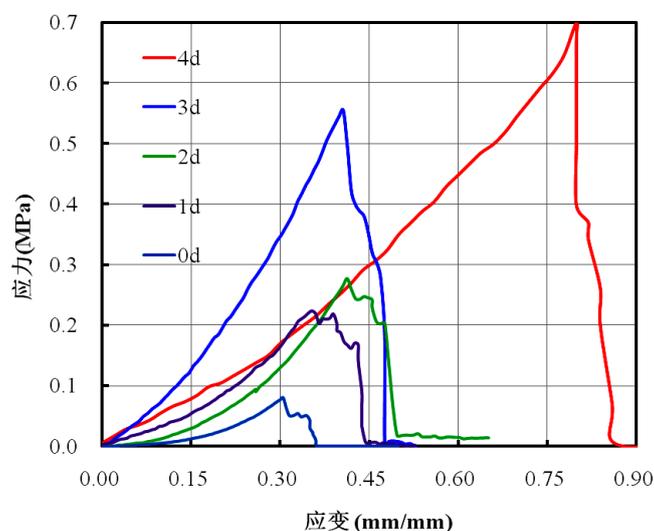


图 7：不同含水量玉米皮样本的应力-应变图

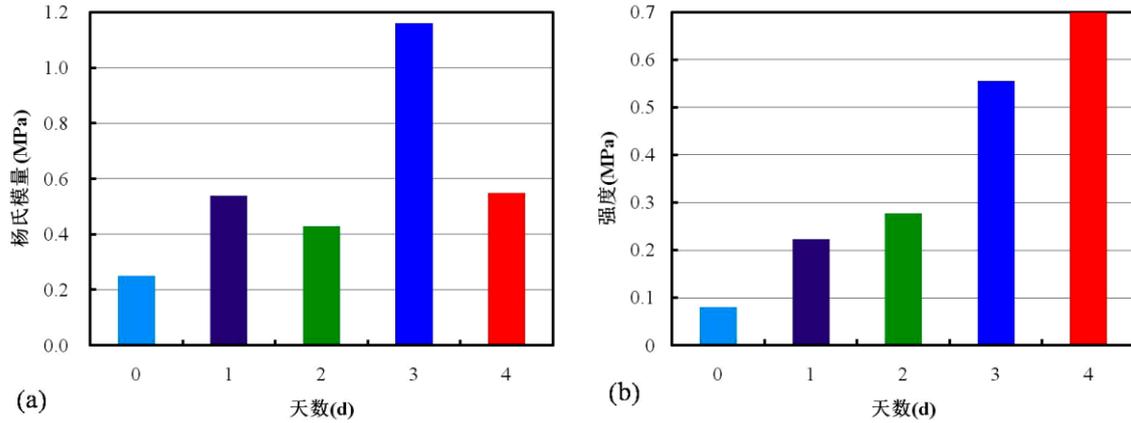
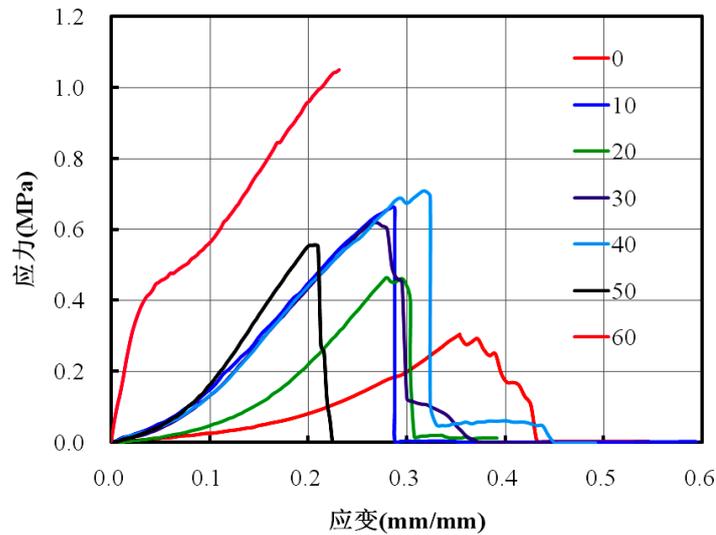
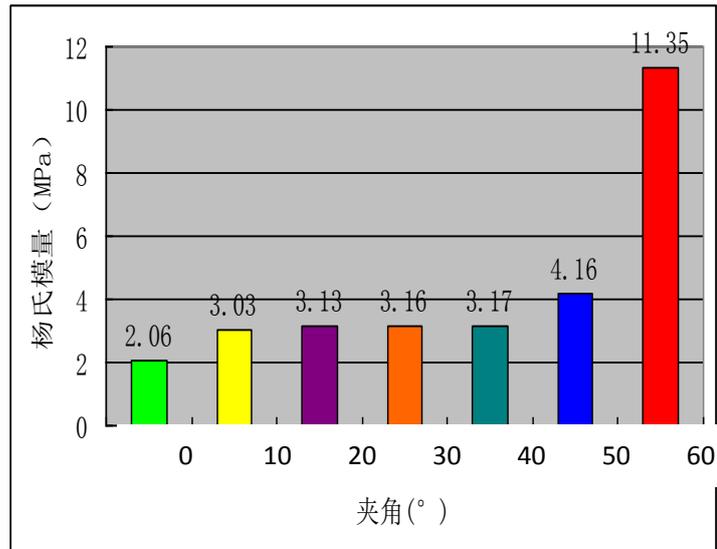


图8 (a) 不同含水量玉米皮样本的杨氏模量 (应变为 0.15mm 时)
(b) 不同含水量玉米皮样本的强度

3.2.2 玉米皮的径向夹角

将玉米皮以径向为 0° 为起始点, 以 10° 为梯度逆时针旋转进行处理得到 0° 、 10° 、 20° 、 30° 、 40° 、 50° 、 60° 样本, 进行力学测试得到应力-应变曲线(图 9)。样本的应力-应变曲线可以屈服点为临界近似分为两个阶段: 弹性阶段和塑性阶段。弹性阶段, 样本图像可看作线弹性变化, 从而样本的杨氏模量比对。塑性阶段, 材料发生断裂, 此时材料发生形变后不能恢复, 并且在屈服点之后应力变化小但应变却出现急速变化。





0°到30°的样本曲线近似弹性形变的直线，杨氏模量与角度的大小成反比。说明玉米皮在该角度范围内有较好的稳定性。40°和50°的样本曲线出现明显的波动，屈服现象较为明显，在一定范围内仍可视为弹性形变。60°的样本在实验仪器的量程之内并未出现断裂，可见玉米皮的抗拉性随着玉米皮与横纹方向的夹角增大而增强。由于大于60°的样本在量程范围内拉不断，则选取60°时的样本参数为代表进行分析。进一步实验可以更换较大量程的测试仪器或者对样本进行形状改变处理。

由图像可知，玉米皮的杨氏模量随着角度的增大而增大，即与玉米皮纹路的夹角越小，玉米皮的杨氏模量越大。玉米皮的强度与夹角大小成正比关系。

结论

1. 玉米皮具有各向异性，其韧性、抗拉度、强度在不同角度上不同，其垂直于横纹的方向抗拉强度强，可用于抗拉材料的产品设计。
2. 玉米皮的性质由其微观结构决定。其微观结构为聚合维管束，含水量的变化对于材料的粘弹性、抗拉强度、断裂强度、弹性模量均造成影响。
3. 玉米皮是单向的纤维增强复合材料，玉米皮呈现典型的各向异性力学特征，杨氏模量与强度与径向的夹角成正比关系。玉米皮的强度与含水量成反比关系，杨氏模量与含水量大体呈反比关系。

致谢

首先，感谢每一位为科学献身的科学家，你们是激励我们青年学子不断追求、探索这个世界的本质的明灯。

其次，感谢东南大学给予这个先进完备的锻炼平台，让我们得以提前感受大学的研究过程。

然后，感谢金陵中学为我们学生提供这样宝贵的学习机会，感谢金陵中学为这个项目付出许多的戴喜老师。

接着，感谢在研究过程中严谨专业、耐心教导我的李志勇导师和陈强导师，以及亲切、耐心的两位学姐。

最后，感谢一直在我身后默默支持我的父母，你们是我永远前行的动力。

Mingyu Gao

Abstract: Purpose: This work reveals the micro-structure and studies the mechanical Anisotropy of maize peel. Employing the scanning electronic microscopy (SEM) and the Instron mechanical testing machine, the micro-structure and mechanical properties of the maize peel are described and characterized. Methods: 20 samples are divided into 2 groups. The first group, the radial direction of corn skin was 10, and the other was 0°, 10°, 20°, 30°, 40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°. The second group are samples which has been pre-severed at room temperature for 0 days (the experimental day), 1 days, 2 days, 4 days, 5 days respectively. Meanwhile, staff uses the technology of SEM in order to observe the microcosmic structure of maize's sheets, including the form of sheets, broken layer. The results shows that the biological material is a fiber-reinforced composite, and its structure is porous; its materials parameters, *i.e.*, Young's modulus and failure strength is increased. Alternating quantity consists of percentage of moisture, the equivalent intermission of changing degrees of included angles with texture. Through the comparisons with mechanic data and microcosmic structure of sheets, the essence of the formation of the mechanic features can be explicated on the basis of experimental facts. Meaning: What the research conveys is that the maize's sheets are capable of excellent ductility along the parallel of texture, which serves as a potential basis for the application of future materials.

Key words: Maize peel, Mechanical behavior, Micro-structure, Young's modulus, Strength

参考文献:

- [1] 蒋庆, 李灏; 非线性弹性、粘弹性力学中的若干变分原理《华中科技大学学报》1991.05
- [2] 王仁 粘弹性力学 《华中科技大学学报》 1991.05 完整页
- [3] 甘应进 莲纤维微观结构分析 《纺织学报》 2009 第 11 期
- [4] 郭敏 张同华 程岚 李佳丽 棕榈叶鞘纤维的拉伸性能 《河南工程学院学报》2014.26(1)
- [5] 孙宝芬 隋淑英 孙永军 张家胜 陈国华 新型再生纤维素纤维—竹纤维《山东纺织科技》2003 年第二期
- [6] 巩继贤 李辉芹 竹纤维-一种纺织材料 《纺织学报》2003 年 第 7 期 第一页前言
- [7] 龙眼鲜果剥壳力学特性 卿艳梅、李长有、曹玉华 中国 1002-6819 (2010) -05-0122

水溶性 CdTe 量子点敏化太阳能电池的组装及性能研究

惠永靖
(金陵中学, 南京)

摘要: 针对目前的能源问题以及太阳能发电技术的现状, 提出第三代碲化镉 (CdTe) 薄膜太阳能电池的合成技术, 通过数据分析对合成的实验方案进行改进以提高电池的效率, 并对未来发展的目标提出想法。

关键词: 量子点敏化太阳能电池, 效率。

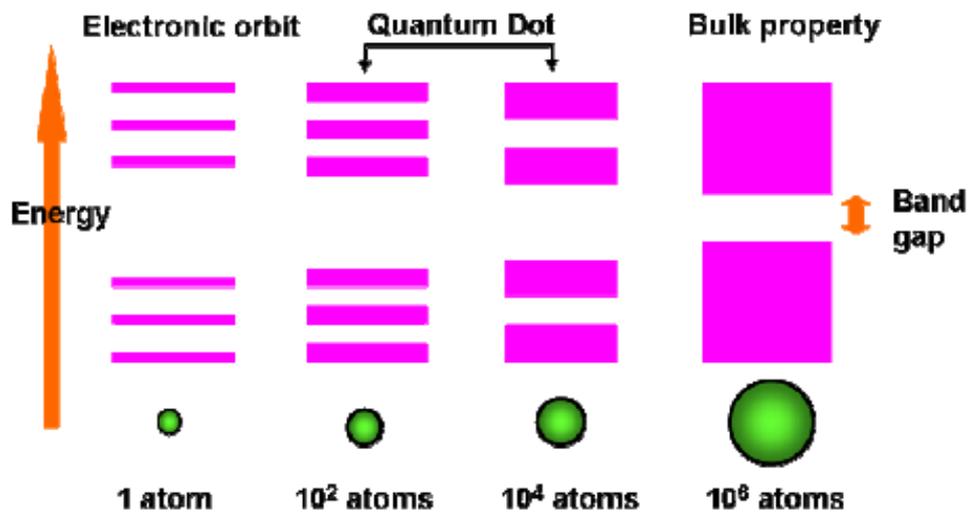
1、绪论

当今世界, 能源问题引起了越来越多人的关注。能量守恒定律 (热力学第一定律) 明确了能量的守恒性。然而, 根据热力学第二定律, 能量的转移和转化却具有方向性, 我们无法用燃料燃烧产生的内能再次使机器做功, 这就是能量耗散与品质降低。如今, 化石燃料 (如煤、石油、天然气等) 已成为人类的主要能源。然而, 化石燃料的资源是有限的, 并且对环境有着很大的破坏: 二氧化硫、氮氧化物、碳氢化合物、二氧化碳等气体的排放造成了环境污染和全球气候变暖。因此, 在节约能源的同时, 人们也在寻找符合可持续发展的新能源。太阳能就是其中前景良好的一种。太阳辐射到地球的能量可达 10^{24} J 每年, 且相对而言取之不尽用之不竭; 同时, 太阳能是一种清洁能源, 它的利用对环境的负面影响很小。(1) 所以, 早在 19 世纪, 科学家们就开始试着利用这种清洁的能源。最有发展与应用前景的领域之一是通过太阳能电池 (光伏电池) 将光能直接转换为电能。如果以光电转换效率是 10% 的光电器件覆盖 0.1% 的地球表面, 就可以满足当前全人类的能源需求。目前, 前几代的太阳能电池 (如硅基电池) 虽然有着较高的光电转换效率, 但生产成本较高, 导致其应用不够广泛。因此, 研究第三代 (第一代为单晶硅, 第二代为“三五族”元素如砷化镓 (GaAs), 第三代为“二六族”元素) 碲化镉 (CdTe) 薄膜太阳能电池的组装及其性能, 对提高能源转化效率、进而缓解能源危机有着重大的意义。

2、背景知识

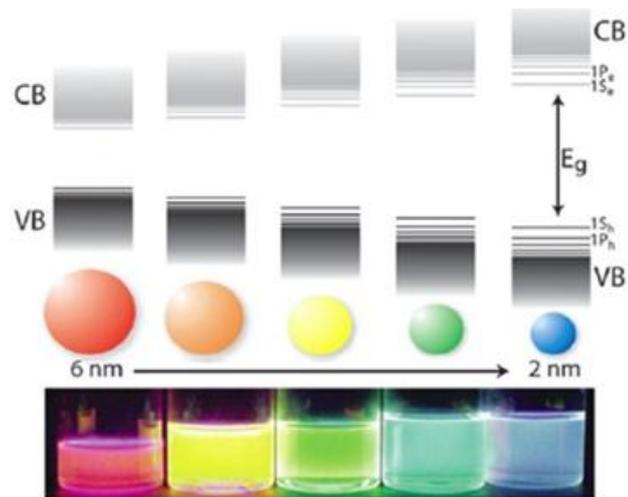
2.1 量子限域效应

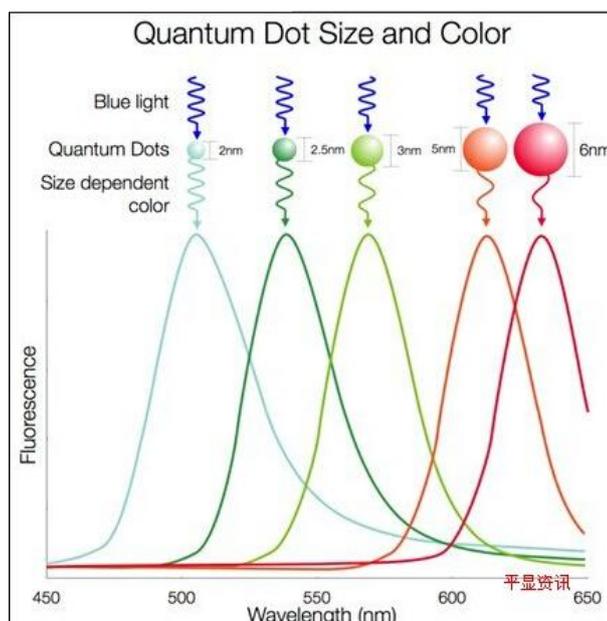
所谓量子点 (Quantum Dot) 材料, 是指在三个维度上的尺寸都小于 100nm 的纳米粒子。当粒子的尺寸达到纳米级后, 内部的电子和空穴在各个方向上的运动均受到限制。由于电子和空穴被量子限域, 电子能级由连续态分裂成分立能级, 能带也因此变宽, 从而使其磁、光、声、热、电、超导电等性能发生较大的变化。



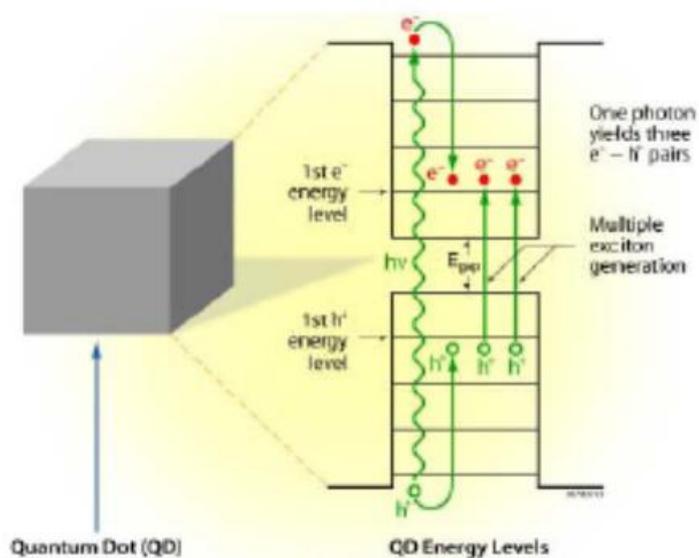
这种分立的能级结构使得量子点具有独特的光学性质。每当受到光或电的刺激，量子点便会发出有色光线，光线的颜色由量子点的组成材料和大小形状决定，这一特性使得量子点能够改变自身发出的光线颜色。

量子点的发光颜色随自身尺寸可调，也是它的一个主要优势。





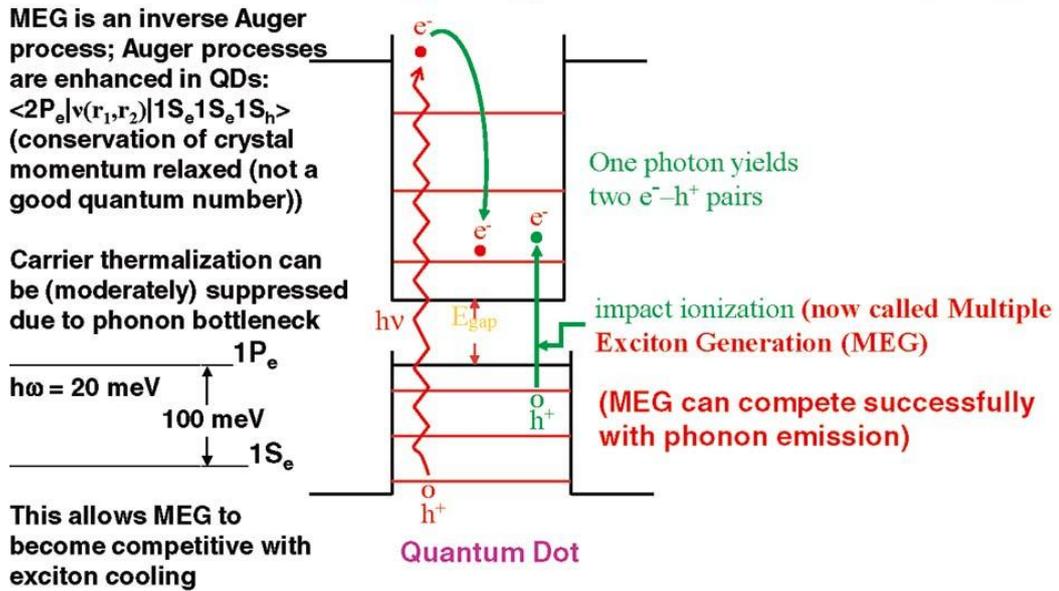
2.2 多激子效应



半导体材料在吸收了一个能量等于或大于二倍于半导体材料的禁带宽度的光子后，其内部就会产生两个或多个电子空穴对。光子内大于禁带宽度的能量是用来激发半导体中的其他光子的，所以会使得量子效率超过 100%。

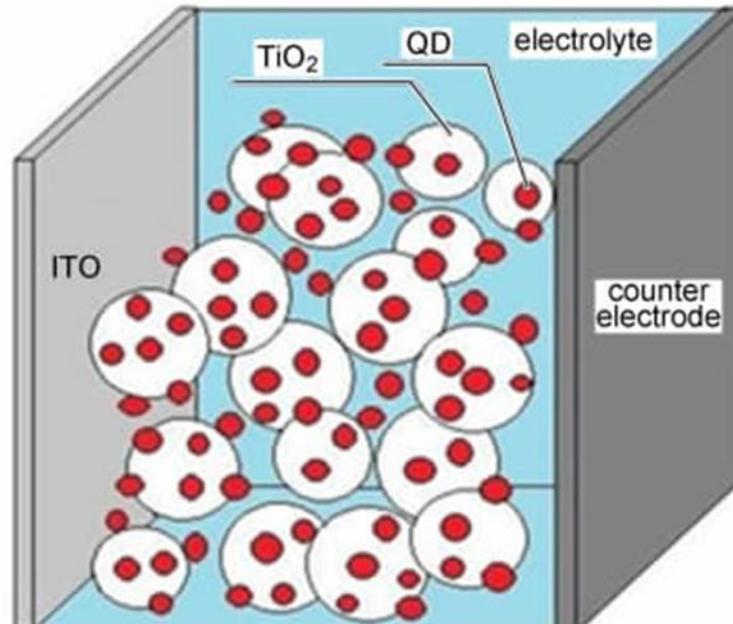
在传统晶硅太阳能电池中，高能光子高于半导体材料带隙的能量部分将以热量（声子）的形式散失，这是限制传统电池理论效率的因素之一。量子点材料可以将载流子限制在其微小体积内，通过产生多个激子，充分利用高能光子的能量，从而大大提高效率，将光能转化为更多的电能。（3）

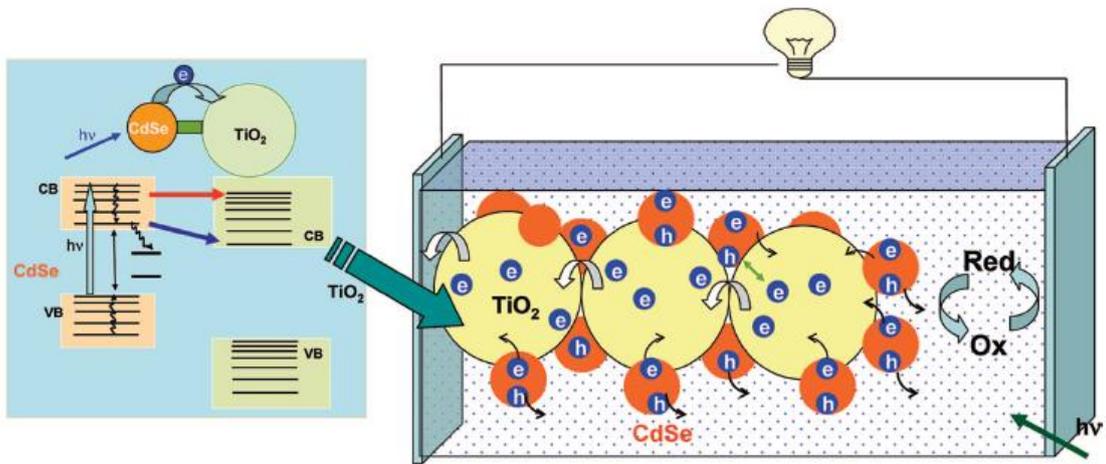
Enhanced Photovoltaic Efficiency in Quantum Dot Solar Cells by Multiple Exciton Generation (MEG)



2.3 量子点敏化太阳能电池的原理

CdTe 吸收光子，使电子从价带激发到导带，由于 CdTe 的导带和 TiO_2 的导带能级比较匹配，所以电子会注入 TiO_2 的导带，然后传给电极。产生的空穴通过对电极传输，形成回路；电解液和空穴发生氧化还原反应。





3. 实验过程

3.1 实验步骤

1. 容器清洗：先用自来水，再用洗涤液及试管刷，最后用去离子水依次洗净 100mL 量筒，锥形瓶，磁力搅拌子；
2. 用移液枪移取 8mL 0.1mol/L 的 CdCl_2 溶液于锥形瓶中；
3. 用量筒量取 192mL 的 H_2O 于锥形瓶中；
4. 用移液枪移取 192 μL 的 MPA 溶液于锥形瓶中；
5. 将混合溶液磁力搅拌，并在后续操作中一直保持搅拌状态使反应液混合均匀；



6. 加入 5mol/L 及 1mol/L 的 NaOH 溶液，利用电子 pH 计，调 pH 至 9，溶液由澄清透明变为白色浑浊液，后又变为澄清透明；
7. 用带细导管的软木塞封锥形瓶口，从进气口通入气瓶里的 N_2 20 分钟左右以排尽空气，防止 NaHTe 被氧化；



8. 用注射器吸取 NaHTe 溶液 0.24mL，并及时补上 NaHTe 溶液的封口胶；



9. 将注射器插入软木塞中，逐滴缓慢地将 NaHTe 溶液加入，可观察到溶液由无色透明变为棕黄色；



10. 将溶液转移到圆底烧瓶中，用调温电热器加热 28 小时，接冷凝回流装置并持续通冷凝水，溶液逐渐由棕黄色变为大红色；





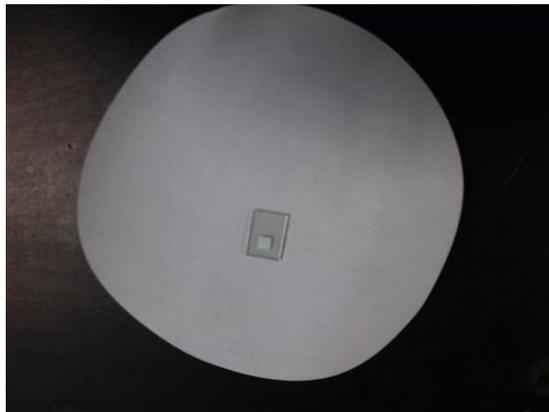
经过紫外分析仪的紫外线照射，该溶液可以发出橙红色的光，如下图所示。

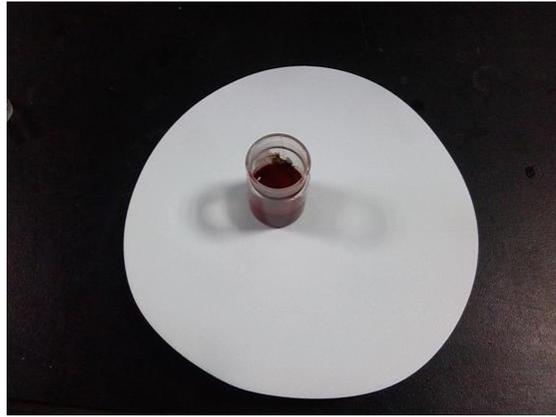


11. 用恒温水浴锅将其蒸发浓缩（保持约 50℃），通过接上真空泵的旋转蒸发器加快蒸发的速率，使溶液由 200mL 左右蒸发至 4mL 左右，溶液颜色也变得更深；



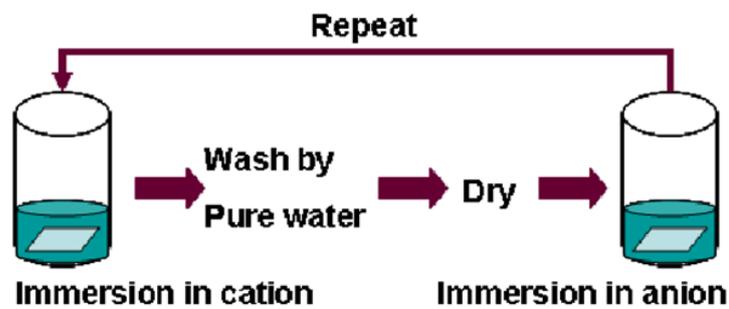
12. 将衬了导电玻璃的白色 TiO_2 片放入小磨口玻璃瓶中，用滴管滴入浓缩了的 4mL 溶液，使 TiO_2 吸收 CdTe，静置约 48 小时，保证 CdTe 的吸附效果尽可能好。





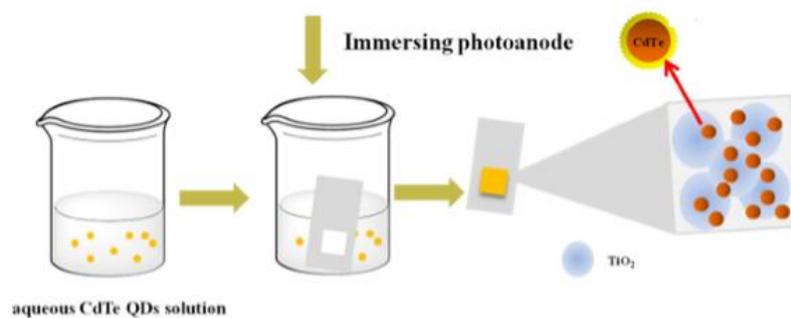
在本次实验中，采取的是非原位法 (in situ)，即先制备好碲化镉量子点后，再将二氧化钛板浸泡在溶液中使其吸附上去。

原位法 (in situ):

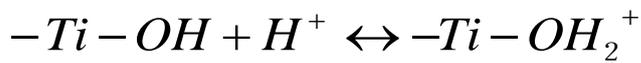
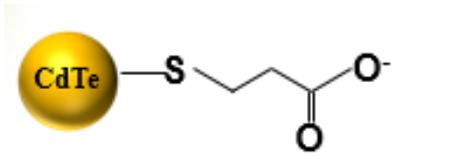
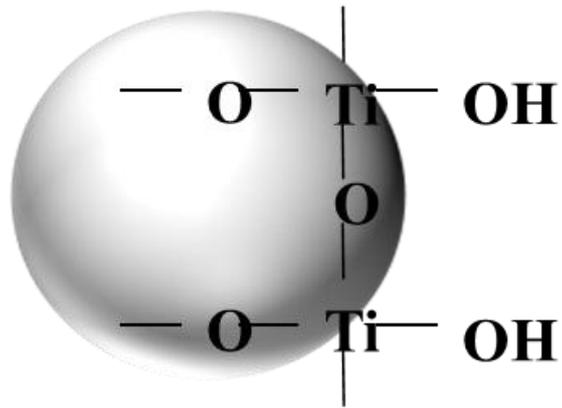


非原位法 (ex situ):

EX-situ法吸附CdTe量子点



3.2 pH 的调控:

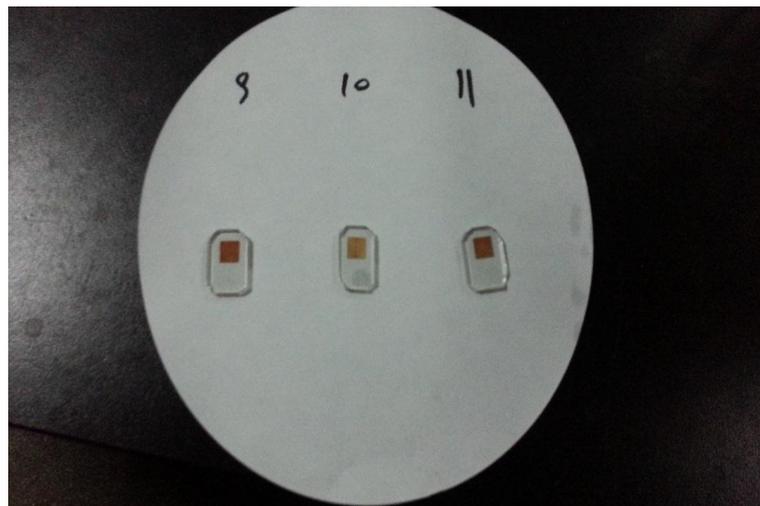


可以看出，pH 越低，溶液中的氢离子越多，与 TiO_2 结合使得 TiO_2 表面所带的负电荷越少。同样，CdTe 表面的 MPA（巯基丙酸）也是如此。

所以，尽量控制 pH 在 8~9 之间，降低两者之间的库仑斥力，有利于量子点更好地吸附在 TiO_2 表面，从而提高电池的效率。

4.实验数据分析:

13.pH 值的调控：逐滴加入 NaOH 溶液，分别调控 pH 为 9、10、11；



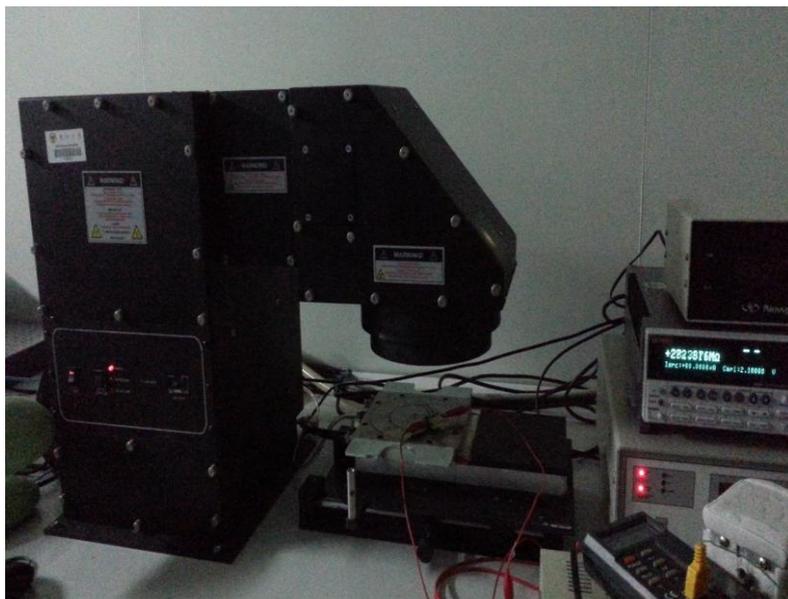
14.配制电解液：S₂-/S_{x2}- 电解质是将一定量的 Na₂S、S、KCl 溶于水和甲醇的混合溶液中，并加热、搅拌约 20 分钟。

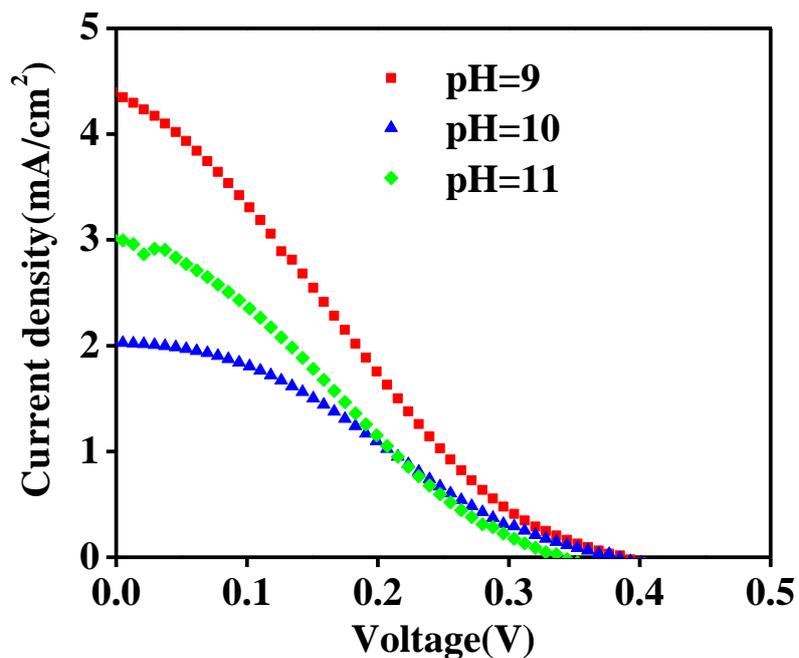


15.用胶带粘在导电玻璃的四周，形成一个位于中央 CdTe 处的凹槽。用移液枪移取电解液使 CdTe 浸润其中，再在上面盖上另一片导电玻璃作为另一个电极，用夹子使之固定。



16.将两片导电玻璃作为电源的两级分别接在太阳能测试系统两端，用模拟太阳光照射太阳能电池片。





其中，Current Density 是电流密度（电淋度），指的是单位面积的电流大小。
Voltage 是电压。
通过改变外电路的补偿电压，可以得到这样一组数据，并用软件描点作图。

结论

根据 $P=U*I$ ，通过调控 pH 以探究其对量子点敏化太阳能电池各项数据的影响，可以看出，在 pH 为 9 时该电池的数据较好，其效率也较高。

虽然在原料成本和生产工艺上有所优势，但量子点敏化太阳能电池的转化效率还不够高，无法达到大规模商业化的程度。同时，所使用的 Cd 作为一种重金属，在生产和使用时也必须格外注意，以免造成环境污染和中毒事故。所以，控制其它的因素来进一步提高量子

点电池的效率，以及寻找更加环保的材料，是未来发展的目标。

致 谢

感谢导师王著元教授的教导，感谢东大先进光子学中心的徐淑宏老师、王赵冲学长以及各位老师、学长、学姐给予的关心和帮助，还希望各位专家批评指正。

Fabrication of the quantum dots sensitized solar cell and the improvement of efficiency of the cell

Hui Yongjing

Abstract: In light of current issues about the energy crisis and technology about solar power, we presented a synthetic method of the third generation CdTe film solar cells. By means of analyzing the experimental data, we improved the fabrication strategy in order to raise the efficiency of the battery, and proposed a brief outlook of the future development of the solar cells.

Key words: quantum dot sensitized solar cell, efficiency.

参考文献

- [1] 高中物理
- [2] 量子点显示技术或将引领下一个十年
- [3] NREL 研发量子点太阳能电池，多激子效应使外量子效率超过 100%
- [4] 量子点敏化太阳能电池：制备及光电转换性能的改进，宋鑫

海藻酸钙纳米纤维研究进展

张弘毅
(金陵中学, 南京)

摘要: 海藻酸钙纤维是长而细的弹性材料, 它们可用于制造具有不同功能的三维生物材料, 包括组织工程面料以及其他结构的生物材料等。这些海藻酸钙水凝胶微纤维同样也可被广泛应用于人体生理组织的替代与构造, 特别是人体中的纤维状组织, 如血管, 神经, 肌肉纤维等。但是, 植物与动物中的纤维组织在微观上往往具有更多的复杂成分与结构, 因此, 生产这些线性组织的替代纤维时, 严格控制他们的形态与大小是至关重要的, 否则, 可能会阻碍细胞的正常生长。现有的几种塑造微纤维的方法有电纺丝法, 湿纺法与熔融纺丝法。但是通过上述方法生产的微纤维都有着统一的、不可调节的化学物理形态, 如何控制微纤维的形态与大小是个大的挑战, 本文将呈现一种新型的、简易的制备海藻酸钙纤维的方法, 并将论证其可行性。

关键词: 微纤维, 海藻酸钙, 微结构, 微流体, 水凝胶。

1. 绪论

海藻酸钙纤维是一种具有优良的生物相容性、可生物降解的纯天然绿色材料。本文主要介绍了海藻酸钙纤维材料的制备、性能及其影响因素, 并对海藻酸钙纤维的应用做了介绍。

随着社会的不断发展和科学的不断进步, “绿色化学”和环保的理念不断得到重视。海藻酸钙纤维的生产原料是以海洋生物为主的海藻酸, 这是一种从海洋植物中所提取出来的多糖物质。海洋资源丰富, 具有可再生性, 因而, 海藻酸钙纤维生产对环境所带来的压力很小^[1]。海藻酸是一种高分子羧酸, 二价的钙离子与相邻分子链上的羧酸结合后形成的海藻酸钙纤维是一种不溶于水的海藻酸盐。一方面, 这种纤维具有海藻酸的生物相容性, 无毒、无害, 可以作为膳食纤维食用, 另一方面, 海藻酸钙纤维具有离子交换性能, 在与钠离子接触后可以使纤维转换成海藻酸钠而具有遇水后形成胶体的性能^[2]。除此以外, 海藻酸钙纤维具有高吸湿性, 易揭除性, 高透氧性, 凝胶阻塞性, 生物降解性和相容性等优异的特性, 因此在医疗方面具有一定的使用价值^[3]。

2. 海藻酸钙纤维的制备及结构

海藻酸是由古罗糖醛酸(以下简称 G)和甘露糖醛酸(以下简称 M)组成的一种水溶性天然高分子材料(图 1)。在生产海藻酸钙纤维的过程中, 海藻酸钠的水溶液通过喷丝孔被挤入含氯化钙的水溶液中, 在这个过程中发生的离子交换把水溶性的海藻酸钠转换成不溶于水的海藻酸钙纤维^[3](图 2)。

海藻酸钙纤维的化学组成十分简单, 由 M 与 G 以 1,4-糖苷键连接。由于在连接过程中会出现以下 3 种状况, 如图 3 所示, 即单一的 MMM 或 GGG 以及 MGM 的 MG 混合并交替。而 G 单元与 M 单元在分子中不同的比率决定了其分子的结构, 不同的结构连同其所表现的不同构象又决定了海藻酸的生物学特性, 由此显现出海藻酸在表现型式和功能性上的多样性^[4, 5]。

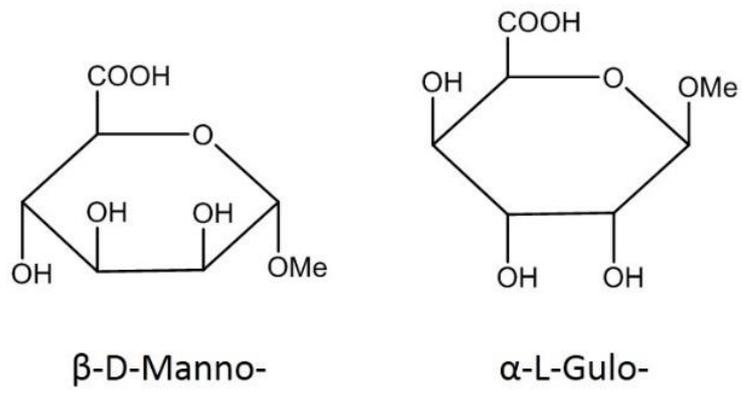


图 1. M 和 G 单体的结构示意图

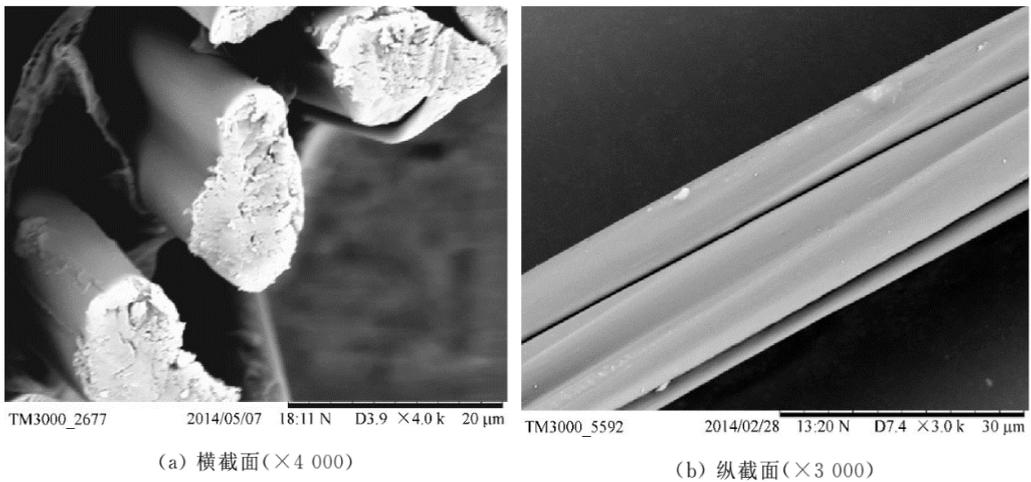


图 2.海藻酸钙纤维 SEM 图片

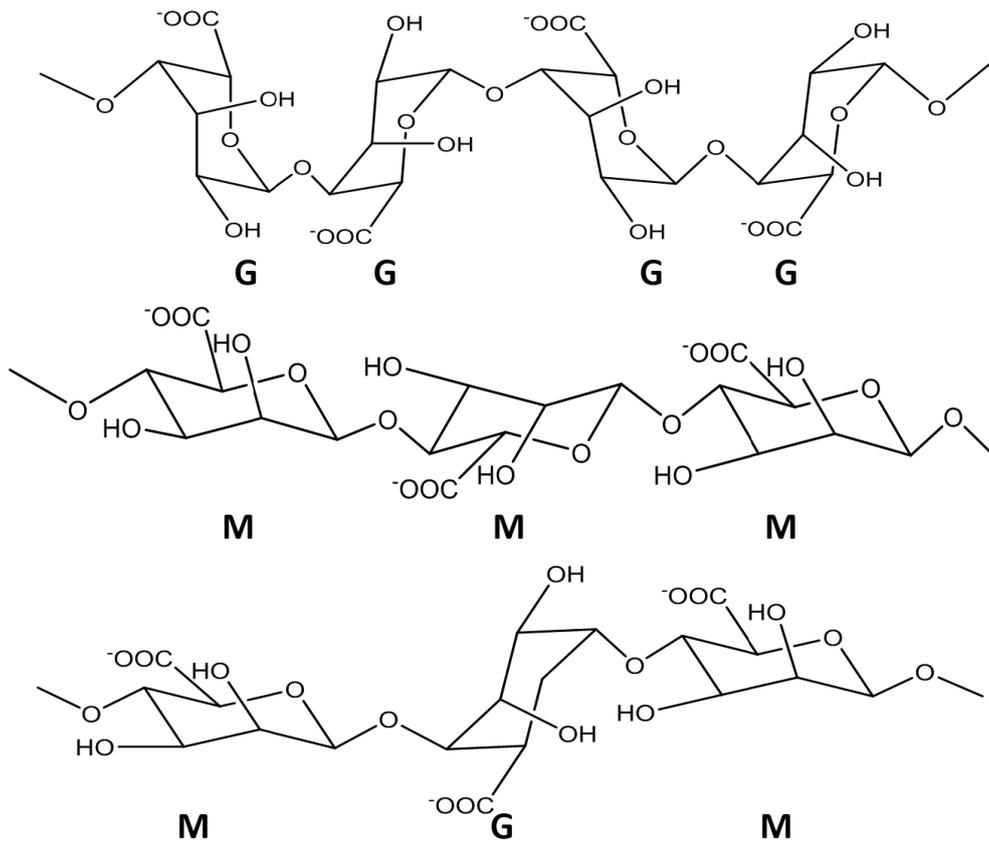


图 3. 海藻酸中 GG、MM 和 GM/MG 链段的立体结构

3. 海藻酸钙纤维的性能

3.1 海藻酸钙纤维力学性能

2014 年,高颖俊等^[6]报道使用单纤强力仪对涤纶纤维、海藻酸钙纤维、黏胶纤维和壳聚糖纤维进行拉伸性能的测试,表 1,测试结果表明几种纤维断裂强度由高到低依次为涤纶纤维、壳聚糖纤维、黏胶纤维、海藻酸钙纤维,而断裂伸长率由高到低依次为壳聚糖纤维、涤纶纤维、海藻酸钙纤维、黏胶纤维。初始模量由高到低依次为壳聚糖纤维、涤纶纤维、海藻酸钙纤维、黏胶纤维。由此可以看出,海藻酸钙纤维的力学性能较差,属于低强低伸纤维,且纤维间的力学性能差异比较大。另外,海藻酸钙纤维断裂强度 CV 值达到 20%,表明该纤维的均匀性差,增加了后续加工的难度,对加工工艺提出了更高的要求。

表 1 不同纤维力学性能

纤维类别	断裂强度/ (cN · dtex ⁻¹)	断裂伸长率/%	屈服强度/ (cN · dtex ⁻¹)	初始模量/ (cN · dtex ⁻¹)
海藻酸钙	3.12	15.197	1.91	1.41
涤纶	6.65	18.286	1.96	2.05
壳聚糖	4.37	22.628	2.75	2.14
黏胶	3.87	14.195	2.83	1.00

3.2 海藻酸钙纤维耐热性能

高颖俊等对不同温度处理后海藻酸钙纤维的力学指标进行了测试，表 2，结果表明当温度低于 90℃时，纤维的断裂强度随温度的升高缓慢增加，而温度超过 90℃后，纤维的力学性能显著下降，当温度为 110℃时其强度为未处理纤维强度的 63.8%。海藻酸钙纤维的初始模量在处理温度低于 90℃时变化不大，但温度达到 90℃时，其下降明显，仅为未处理纤维初始模量的 24.1%，随着温度的继续升高，其下降趋势趋于缓和。海藻酸钙纤维的断裂伸长率随处理温度的变化并没有出现明显的变化。随着处理温度的升高，纤维的外观形态也随之发生变化，温度达到 90℃时，纤维颜色开始变黄，且随着温度的继续升高，颜色变化更明显。

表 2 不同温度处理后海藻酸钙纤维的力学性能

指标	未处理	处理温度/℃							
		40	50	60	70	80	90	100	110
断裂强度/(cN·dtex ⁻¹)	3.12	3.14	3.30	3.54	3.20	3.61	2.50	2.04	1.99
初始模量/(cN·dtex ⁻¹)	1.41	1.35	1.39	1.44	1.38	1.42	0.34	0.34	0.32
断裂伸长率/%	15.197	14.100	13.615	15.431	15.535	15.235	14.339	16.176	14.009

3.3 海藻酸钙纤维的凝胶性

海藻酸钙纤维在生理盐水作用下会产生凝胶化反应，纤维大分子中的钙离子与溶液中的钠离子交换，钙离子进入纤维大分子并与大分子结合形成类似“蛋盒”的结构^[7]，图 4。海藻酸钙纤维的凝胶化特性是海藻酸钙纤维敷料凝胶阻塞性和易去除性的原因所在。海藻酸钙纤维凝胶化后，其外观形态发生变化，纤维表面透明度提高，在光学显微镜下观察发现，纤维并非全部变为凝胶状物质，仍存在纤维状物质。其原因可能为纤维在经过凝固浴时，其内部的钠离子并没有与凝固浴中的钙离子交换，在纤维与生理盐水继续作用过程中，外部凝胶形成后阻止钠离子的进入，从而阻碍了凝胶的继续形成，因而形成了以海藻酸钙为表层、海藻酸钠为芯层的类似于“皮芯结构”的纤维，图 5。海藻酸钙纤维与生理盐水作用后纤维膨胀，直径变大，为 28.37μm，膨胀率为 59.79%，纤维直径 CV 值为 9.83%，比干燥纤维直径差异小，但比吸水后纤维直径差异要大。

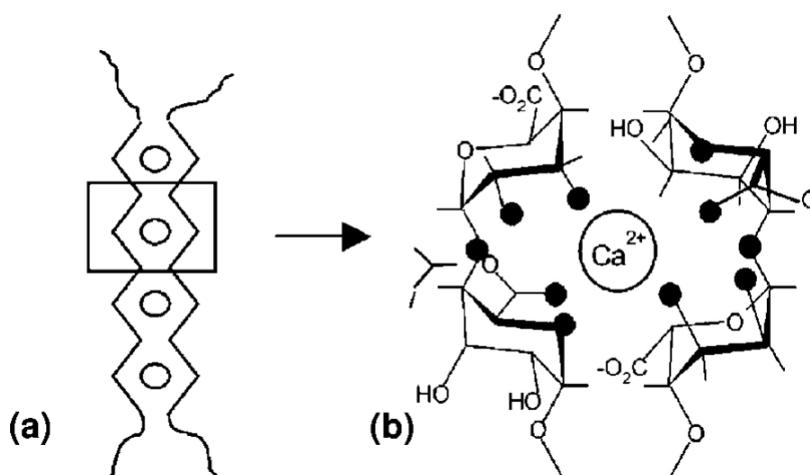


图 6. 海藻酸钙纤维“蛋盒结构”

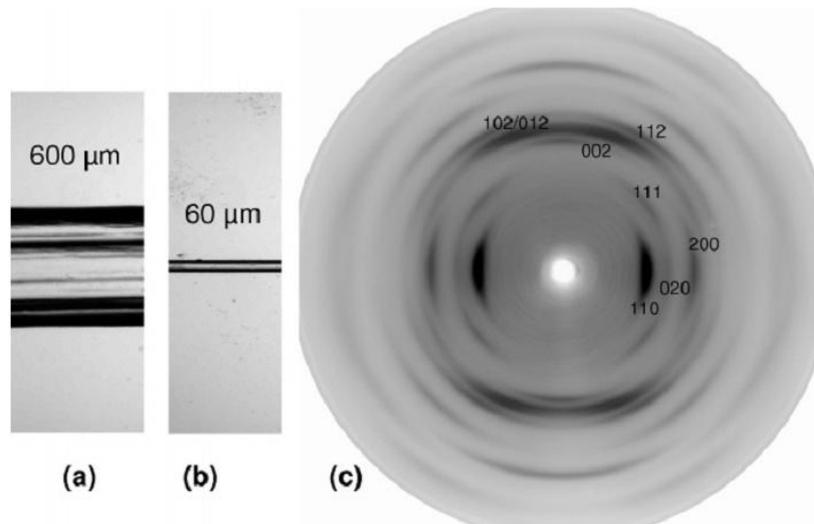


图 7. 海藻酸纤维“皮芯结构”

3.4 海藻酸纤维的阻燃及防辐射性能

海藻酸钙纤维中含有质量分数约 10% 的钙离子, 因此早在 20 世纪 40 年代, 英国人 Speakman 和 Chamberlain 就发现了海藻酸钙纤维优良的阻燃性能: 一方面, 该纤维的极限氧指数可以达到 34%, 在空气中很难燃烧; 另一方面, 在与明火接触时, 海藻酸钙纤维的燃烧过程缓慢, 纤维不熔融, 是一种本质阻燃的纤维材料。英国纺织行业曾把海藻酸钙纤维应用于室内装饰品及其它对阻燃性能有较高要求的产品中, 但是由于纤维的生产成本较普通纺织纤维高, 并且由于其它阻燃技术的发展, 限制了该纤维在阻燃领域中的应用。由于海藻酸纤维可以结合各种类型的金属离子, 因此, 以海藻酸钠为原料、氯化钡水溶液为凝固浴, 通过湿法纺丝制备的海藻酸钡纤维与普通粘胶纤维相比有更好的防辐射性能, 在服用防辐射及军工方面有一定的应用潜力^[2, 8]。

3.5 医用海藻纤维的性能

由于海藻酸纤维结构的多样性, 导致其功能的多样性。作为一种医疗领域的纤维, 医用海藻纤维体现出其自身优异的特性。2007 年, 秦益民等对海藻酸钙纤维的医学性能做了研究^[9], 文章中指出海藻酸钙纤维具有很高的吸湿性、扩散性及透湿性, 与棉纱布相比其单位质量的吸液率是棉纱布的三倍, 具有明显的优越性; 吴谦^[1]等文章指出海藻酸钙纤维具有良好的易揭除性, 与伤口渗出液接触后形成凝胶, 伤口覆料可通过用温盐水渍湿后整片去除。这对伤口新生组织有一定的保护, 不会使患者再次遭受伤口二次撕裂的痛苦, 缩短了愈合时间。此外, 海藻酸钙纤维还具有很高的透氧性, 凝胶阻塞性质及生物降解性和相容性, 有利于伤口的快速愈合及避免拆线造成二次伤害。

4. 海藻酸钙纤维的应用

早在 1946 年, 英国人 Johnson 和 Speakman^[10]就对海藻酸纤维在纺织领域中的应用进行了研究。他们制备了绉纱、仿羔皮织物、起绒织物等面料。利用海藻酸钙纤维溶于碱性水溶液的特点, 在煮漂过程中溶解海藻酸钙纤维后使面料具有特殊的性能。随后英国 Courtaulds 公司开始商业化生产海藻酸钙纤维, 利用纤维良好的防火性能和能溶解于稀碱溶液中的特性, 在合成纤维大规模地应用在纺织及室内装饰行业以前, 将海藻酸钙纤维应用于室内装饰材料及生产袜子上。近年来, 海藻酸纤维在医疗卫生领域中得到了广泛的应用, 是生产高吸湿性医用敷料的优质原材料^[11]。作为一种纯天然绿色高分子材料, 海藻酸纤维在传统纺织品中的应用也日益得到重视。

目前,海藻酸纤维的最大应用领域是医疗卫生中的医用敷料。许多研究结果已经证明了伤口愈合的最佳条件是在一种温暖而湿润的状态下。对于海藻酸医用敷料,在水分进入纤维形成胶体之后,创面上的敷料可以形成一层湿润的水凝胶,从而给伤口提供一个合适的愈合环境。许多临床试验已经证明:由海藻酸纤维制成的医用敷料不但有良好的吸湿性,而且比其它传统的纱布更能促进伤口的愈合^[12-14]。目前,制约海藻酸纤维在更多领域中应用的一个主要原因是其比较高的生产成本。海藻酸是从褐藻中提取的天然高分子^[15]。尽管全世界各地有丰富的褐藻资源,并且可以通过人工养殖大量生产褐藻类生物质,但是从褐藻中提取海藻酸需要大量的工业用水及能耗,这使海藻酸的原料价格大大高于普通高分子材料,在一定程度上制约了海藻酸纤维在服装及产业用纺织品中的应用。

因为海藻酸为多糖类大分子聚合物,聚合物燃烧时发生的热分解主要为链式解聚和无规分解两类。这两类热分解可以同时发生,也可以分别发生,但通常是同时发生的^[16]。海藻酸钙纤维的阻燃性主要是和其自身的羧基以及含有的钙金属离子有关。(1)大分子中含有钙离子,可能含有钠离子,在海藻纤维的燃烧过程中就可能生成碱性环境,再者由于多糖环上含有羟基基团,在碱性环境和羟基基团的共同影响下海藻酸大分子极易发生脱羧反应,生成不燃性 CO₂,而冲淡可燃性气体的浓度;(2)可能生成 CaO 和 CaCO₃ 沉淀而覆盖于纤维大分子表面,发生覆盖或交联作用,在二者共同作用下产生阻燃效果^[10]。张传杰等^[11]采用氧指数法和锥形量热仪测试海藻酸钙纤维的阻燃性能,研究发现海藻酸钙纤维具有优异的阻燃性能。其极限氧指数为 34.4 %,在空气中离火自熄;且燃烧过程中的热释放速率、有效燃烧热和总放热量比较低,二氧化碳的生成速率比较高。

5. 实验与研究

5.1 理论分析

海藻酸钙的制备依赖于海藻酸钠与氯化钙溶液的的相互反应,其中氯化钙事实上作为海藻酸钠的交联剂。海藻酸在遇到钙离子时能够迅速固化形成海藻酸钙水凝胶。能够通过改变装置的构造或是各相流体的相对流速条件来得到不同形貌的纤维。通过对照试验与绘制函数图表的方式论证理论的正确性并得出结论。

5.1.1 实验原理

氯化钙与海藻酸钠溶液在不同条件下生成的不同形态的海藻酸钙水凝胶微纤维,通过对照实验的方法对海藻酸钙微纤维的可塑性进行论证,同时,通过对比 HepG2 细胞与小鼠纤维细胞在海藻酸钙的不同型号的凝胶纤维中的生存情况,对其可应用性进行证明。

5.2 课题研究的方法

5.2.1 实验材料与仪器

海藻酸钠	Sigma-Aldrich Co.
氯化钙	国药集团化学试剂有限公司
注射器 1mL	SGE 公司
蠕动泵	保定兰格恒流泵有限公司
体视显微镜	宁波永新光学股份有限公司
毛细玻璃管	合肥奇晶电子机械有限公司
PE 管	Scientific Commodities 公司
5 分钟速干胶	ITW Devcon 公司
载玻片	帆船牌
微电极控制仪	Sutter Instrument 公司

5.2.2 实验过程

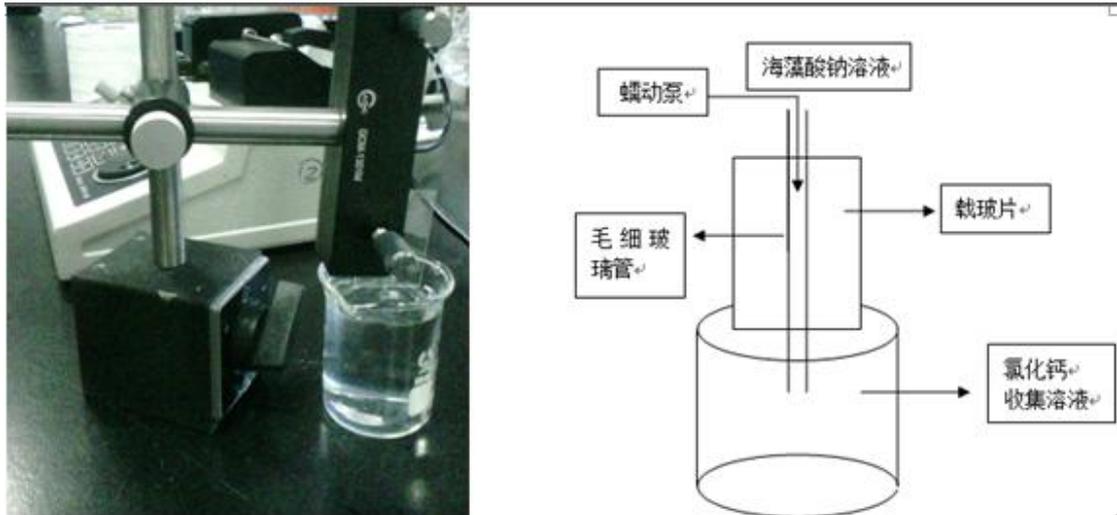


图 8.实验装置实物及示意图

(①实验装置实物图②实验装置示意图)

利用图示以及表格中的装置可制备不同形态的的海藻酸钙纤维，其中为了维持海藻酸钠溶液通入时较为稳定，用 AB 胶将毛细玻璃管固定在载玻片上，组成最为简单的微流控装置。这种简易装置便于固定，且能够起到对流体的控制作用。其中，毛细玻璃管管道内径 $300\mu\text{m}$ ，蠕动泵的流量为 0.8ml/h ，速度是 $798.\mu\text{m}/\text{min}$ ，注射器和软管的内径为 0.86mm ，外径为 1.32mm 。经检验，装置状态均正常。

实验时利用蠕动泵将 1mL 注射器中的浓度为 2% 的海藻酸钠溶液通过毛细玻璃管注入到氯化钙的收集池中，与溶液中钙离子发生反应形成海藻酸钙水凝胶，并依靠重力作用将其拉伸成直线形的纤维。

在实验过程中能够清楚地看到海藻酸钠溶液在通入氯化钙溶液中瞬间就可生成海藻酸钙水凝胶。在稳定的流速条件下，随着蠕动泵将海藻酸钠溶液的推入，能够在氯化钙溶液中形成螺旋向下的稳定的实心直线形海藻酸钙纤维。

通过改变毛细管的出口口径能够对纤维的直径进行调控，改变氯化钙溶液的浓度则能改变纤维在收集池中的向下形态。一般来讲溶液浓度越高，纤维越容易浮于溶液表面，而溶液浓度越低纤维的生成则多趋向于垂直向下。选择合适的收集液浓度，纤维才可能出现螺旋向下的生成状态，如图所示：

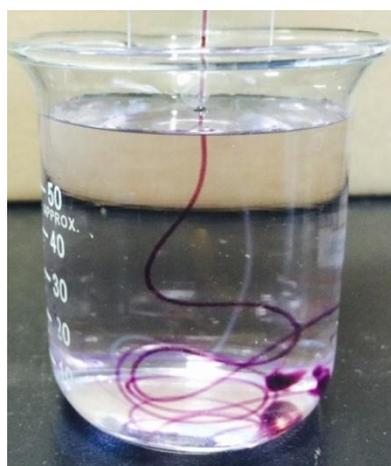


图 9.实验现象：海藻酸钠溶液通入氯化钙溶液生成海藻酸钙水凝胶
同样，当用蠕动泵推动溶液时选取的流速较小，则纤维也趋向于直线向下生成，而流速

越大，螺旋生成的状态也越明显。这种螺旋生成的状态当然还受溶液粘度、纤维粗细的影响。之后，对微纤维的直径与速度的关系进行进一步测量。

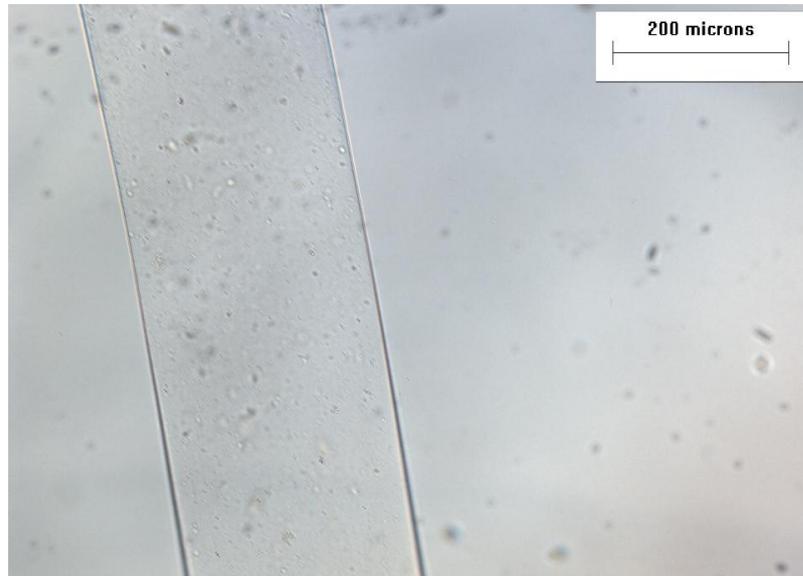


图 10. 生成的纤维用离子水清洗后置于体视显微镜下观察如图：实心直线形海藻酸钙纤维（图中比例尺为 200 μm ）

5.3 结果与讨论

5.3.1 海藻酸钙微纤维的形态可控性

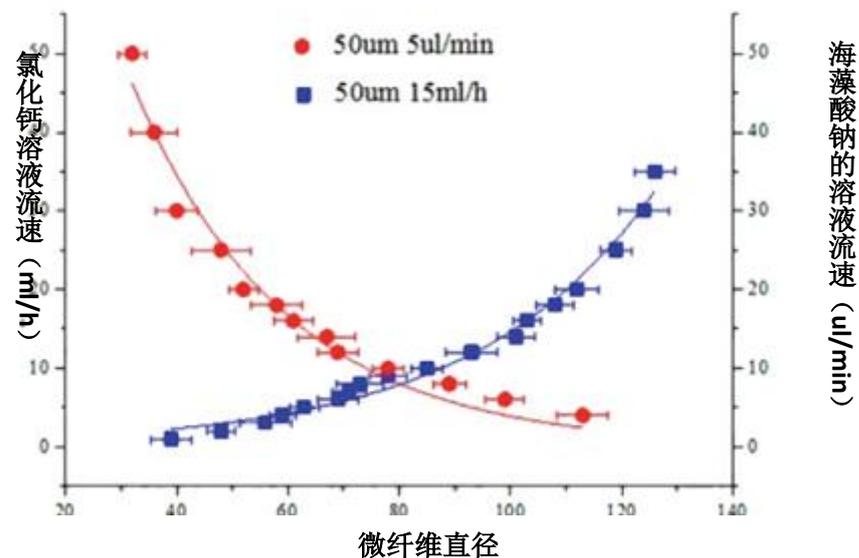


图 11. 微纤维直径与氯化钙、海藻酸钠溶液流速之间的关系图

从微流控装置中得出的数据如上图（管道内经 50 微米，收集通道内经 580 微米）是凝胶微纤维的直径与纤维芯层、外围皮层的流速的关系，由于芯层液体的固化，实际的纤维直径与理论计算值相比偏大。同时，纤维的直径与海藻酸钠的流速成正相关，随着海藻酸钠溶液（鞘层）的流速从 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 上升至 35 $\mu\text{L}/\text{min}$ ，纤维直径增加了约 90 μm ，相反，当 CaCl_2

溶液（鞘层）的流速从 4 mL/h 上升至 35mL/h，纤维直径平均减少了约 80 μ m。由此证明了，通过调节鞘层的合成液的流速，我们可以对海藻酸钙纤维的直径进行调控，即：海藻酸钙纤维的大小是可控的。

同时，通过注入多个不同核心（溶解性能不同）的溶液，形成如下图的几种不同形态的微纤维（他们可应用肌肉组织的替代与填充，具有良好的生物相容性），即先注入均不溶于收集液的溶液，在纤维成型后，再在离子水中洗涤、除去相应物质，形成特殊形态的水凝胶纤维，以上证明了水凝胶微纤维的可塑性，即利用上述手法，可以对微纤维的形态进行塑造以便应用，还可以塑造出单层管道型乃至双层管道型的微纤维，进行血管，神经，肌肉纤维的替代。

综上所述，得出结论，应用以上方法，水凝胶纳米纤维的形态，大小是完全可控可调的。这将为纳米生物学做出巨大贡献。

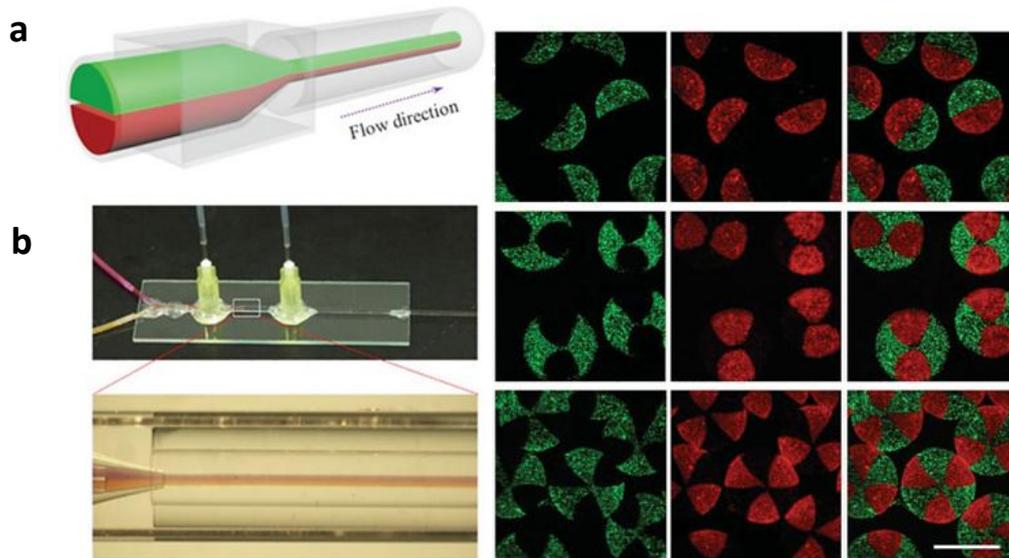


图 12.a.制造“双面型”纤维的微流控装置的示意图 b.微流控装置的数码实物图 c.由上至下依次为双分区、四分区与六分区的微纤维 CLSM 图

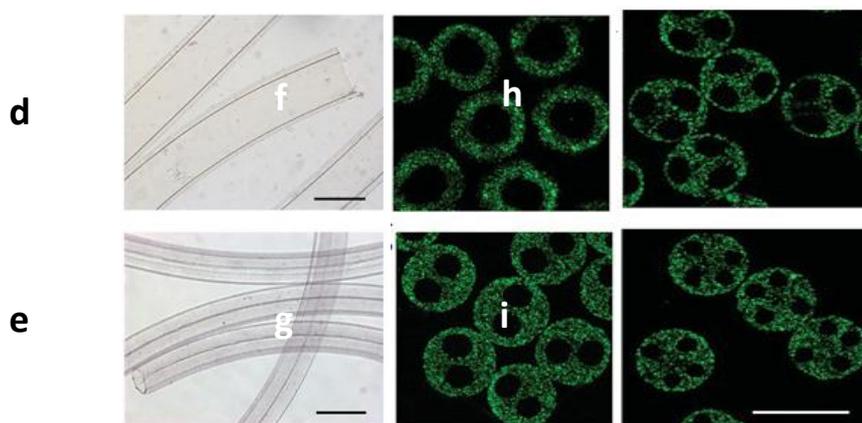


图 13. d. 显微镜的单通道海藻酸钙纤维实物图 e.显微镜的双通道海藻酸钙纤维实物图 f,g,h,i.依次为单通道、双通道、三通道与四通道的微纤维的 CLSM 图

5.3.2 海藻酸钙微纤维的应用可行性

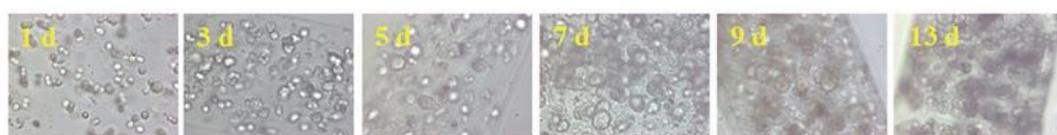


图 14.显微镜下 HepG2 细胞在海藻酸钙微纤维管中培养 14d 的实物图

上图展示的是 HepG2 细胞在海藻酸钙微纤维管中培养的过程,在两个星期的培养期中,数据显示 HepG2 细胞在第五天达到了约 80%的生存与增殖能力,并且他们在数量上还在增加。

下图清晰的展示了 NIH 3T3 细胞与 HepG2 细胞分别的增殖情况。绿色荧光部分填充物为 CaCl_2 溶液与培养液混合物,红色荧光部分填充物为海藻酸钠溶液与培养液混合物。

以上数据及实验证明了,海藻酸钙纤维的内部环境适合于细胞的增殖与生长,海藻酸钙水凝胶微纤维完全可以用于体外的组织与细胞培养,同时也可用于体内的血管及纤维组织的替代。海藻酸钙微纤维的完全可应用于医学治疗与研究,其前景是广阔的,其应用是广泛的。

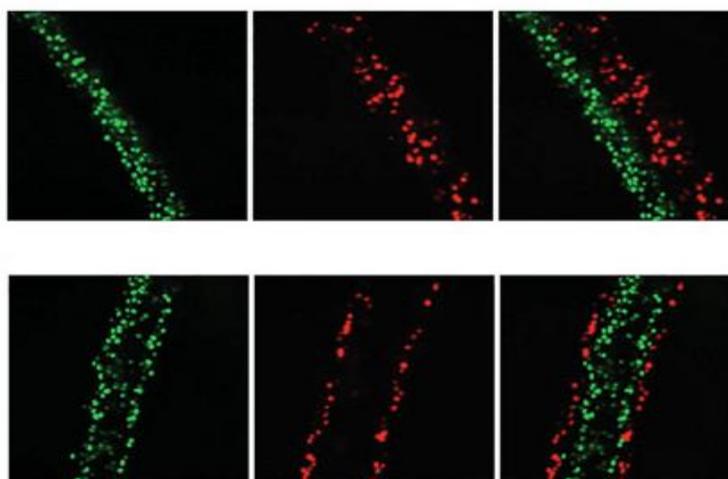


图 15. a),b) NIH 3T3 细胞(红色荧光记号)与 HepG2 细胞(绿色荧光记号)分别的增殖情况,a 为双面型海藻酸钙水凝胶微纤维中两种细胞的增值 CLSM 图,b 为中空(单层管道)型海藻酸钙水凝胶微纤维中两种细胞的增值 CLSM 图

6 展望

海藻酸纤维是一种具有优良的高吸湿成胶性、整体易去除性、高透氧性、生物相容性、生物降解吸收性的纯天然绿色材料,海藻酸纤维在与生理盐水接触后形成胶体的性能使其在医用卫生领域中有特殊的应用价值。在保持海藻纤维原有性能的基础上,附加其他性能如抗菌、远红外等性能以改善其应用深度已成为这一领域的重要研究方向。同时纯海藻纤维存在着机械性能如强度低等缺点,而高分子之间的共混技术和复合技术是改善高分子材料性能的有效方法,对于得到多功能和高附加值的海藻酸纤维有重要的意义。然而,由于生产成本低,纤维的强度和延伸性偏低,除了应用于高科技医用敷料,海藻酸纤维在其它领域中的应用目前还有待开发。

结 论

通过控制溶液的流速、成分,我们完全可以控制、塑造水凝胶纳米纤维的形态、大小。同时,海藻酸钙水凝胶微纤维可以用于替代血管,神经以及肌肉组织,是细胞生长的良好场所。

致 谢

在本论文的写作过程中,我的导师赵远锦老师倾注了大量的心血,从选题到开题报告,从写作提纲,到一遍又一遍地指出每稿中的具体问题,严格把关,循循善诱,在此我表示衷心感谢,同时我还要感谢在我学习期间给我极大关心和支持的各位老师以及关心我的同学和朋友。

The Research progress of Ca-alginate microfiber

HongYi Zhang

Abstract: Microfibers are long, thin, and flexible materials. They are useful for the creation of various functional three-dimensional (3D) objects, including clothes and other architectures by folding, bundling, reeling, and weaving. These microfibers have also been attractive for creating complex 3D tissues in vitro because the hierarchical structures of the human body include various types of fiber-shaped 3D cellular constructions, such as blood vessels, muscle fibers, nerve bundles, hepatic cord structures, and similar anatomical structures. However, the fiber-shaped structures in plants and animals usually possess compositional and topographical properties that vary spatiotemporally on the microscale. Thus, to engineer these linear tissues, preparation of heterogeneous cellular microfibers with similar microstructures is essential for regulating the direction and distribution of cell growth. Several methods have recently been developed to fabricate microfibers continuously, such as electrospinning, wet spinning, and melt spinning. However, most of the microfibers generated by these techniques have a homogeneous chemical composition and structure, and the creation of continuous microfibers with spatiotemporally tunable chemical compositions and structures remains a great challenge. Microfluidics has created exciting avenues of scientific and engineering research into the synthesis of functional materials. A series of research projects has demonstrated the feasibility of engineering continuous microfibers with single or multiple compositions and structures by using coaxial polydimethylsiloxane (PDMS) microfluidic channels. Here, we present a one-step, continuous process for the scalable formation of microfibers of Ca-alginate with desired features using novel capillary microfluidics.

Key words : Microfibers , Ca-alginate , microstructure , microfluidic , Hydrogel .

参考文献

- [1] 王兵兵, 孔庆山, 纪全, 夏延致.海藻酸钡纤维的制备和性能研究[J]. 功能材料, 2009, 40(2): 345-347.
- [2] 秦益民. 海藻酸纤维的发展历史[J].合成纤维, 2011,40(11):1-4.
- [3] 吴谦, 王栋, 孙瑾.医用海藻纤维研究现状. 四川化工, 2013, 6(16): 19-21.
- [4] 秦益民. 海藻纤维应用研究进展. 合成纤维, 2012, 4(41): 11-16.
- [5] 顾其胜, 朱彬.海藻酸盐基生物医用材料. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 26(11):5194-5198.
- [6] 秦益民, 朱长俊, 冯德明.海藻酸钙医用敷料与普通棉纱布的性能比较[J]. 纺织学报, 2007,28(3):45-48.
- [7] SIKOSKUP, MOF, SKJAJ-BRAEDG, etal. Evidence for egg-box-compatible interaction calcium-alginate gels form fiber X-ray diffraction [J]. Biomacromolecules, 2007, 8: 2008-2013.
- [8] Johnson A., Speakman J. B. Some uses of calcium alginate rayon [J]. Journal of the Society of Dyers and Colourists, 1946, 62(4): 97-100.
- [9] Thomas S. Alginate dressings in surgery and wound management--Part 1 [J]. Journal of Wound Care, 2000, 9(2): 56-60.
- [10] Thomas S. Alginate dressings in surgery and wound management--Part 2 [J]. Journal of Wound Care, 2000, 9(3): 115-119.
- [11] Thomas S. Alginate dressings in surgery and wound management--Part 3 [J]. Journal of

Wound Care, 2000, 9(4): 163-166.

[12] Qin Y. Alginic acid fibres: an overview of the production processes and applications in wound management[J]. Polymer International, 2008, 57(2):171-180.

[13] 高振华, 杜兆强, 田骅飞, 孙瑾, 海藻纤维应用研究进展. 广东化工, 2012, 235(39):93-95.

[14] 高颖俊, 靳向煜. 海藻酸钙纤维基本性能的研究与表征. 东华大学学报(自然科学版), 2014, 39(6): 734-738.

[15] 秦益民. 功能性医用敷料[M]. 中国纺织出版社, 2007.

基于多位点膜修饰策略的细胞膜成像

桑娜

(金陵中学, 南京)

摘要: 细胞膜成像对细胞的转运, 囊泡运输, 细胞凋亡等重要生物学过程有动态跟踪的能力, 因而得到了大量关注。在本项工作中, 乙二醇壳聚糖(一种多功能生物材料来自天然聚合物)第一次用于基于多位点膜修饰策略的细胞膜成像。以乙二醇壳聚糖为骨架, 聚乙二醇-胆固醇和异硫氰酸荧光素(FITC 分子)为侧链合成乙二醇壳聚糖衍生物——乙二醇壳聚糖-胆固醇-异硫氰酸荧光素(Chito-Chol-FITC)作为新型细胞膜成像试剂。胆固醇和FITC分子分别作为疏水性锚定单元和荧光单元。目前这项工作表明乙二醇壳聚糖的衍生物这类生物大分子能够在细胞膜表面组装, 这一发现可能对揭示生物材料与生物体系之间的相互作用具有重要意义。并且, 多位点锚定策略也为未来的细胞表面工程研究提供了一个新的平台。

关键词: 乙二醇壳聚糖; 多位点锚定; 细胞膜

1、 绪论

1.1 细胞膜及细胞膜成像的重要性

细胞膜是细胞结构中分隔细胞内外不同介质和组分的界面, 是防止细胞外物质自由进入细胞的屏障。它保证了细胞内环境的完整性和相对稳定性, 使各种生化反应能够有序运行。细胞膜在细胞与环境之间的物质运输、能量转换及信息传递过程中发挥着重要的生理功能。因此, 通过跟踪细胞膜的变化, 可以对细胞行为(如细胞分裂、细胞出泡等)有更好的理解。我们因此希望通过细胞膜表面修饰来实现对细胞膜的成像。

1.2 细胞膜成像策略

当前, 应用最为广泛的策略之一是利用锚定基团与细胞膜磷脂双分子层的疏水相互作用对细胞膜表面进行修饰。这种方法的优点是锚定速度快, 普适性好, 细胞毒性低。一般常用的疏水锚定基团有胆固醇分子、碳氢链(包括单一碳氢尾链或者脂质中的双碳氢尾链)^[1-3]和维生素E分子^[4]等。为了提高合成的锚定试剂的水溶性以及减缓锚定试剂被细胞内吞的速度, 一般选择在所构建的分子中嵌入一段亲水基团, 如脱氧核糖核苷酸链或聚乙二醇链^[5]。这种两亲性分子在实现插膜锚定功能的同时, 可以在水溶液中稳定存在, 且具有好的生物相容性, 能延长体内循环时间, 因此在生物医学领域具有很大的应用前景。

目前该领域内常用的策略多为单一位点的细胞膜锚定, 即每个锚定分子中只有一个疏水基团用于插膜。这种方式存在在细胞膜上滞留时间短的问题: 多数锚定分子会被细胞快速内吞或从细胞膜上脱落, 使得修饰效率很有限。虽然目前已有研究组开展过多位点锚定试剂的应用, 但其修饰效果仍不理想。因此, 开发一种普适性好, 修饰效果优异的多位点锚定试剂就显得十分必要。于此, 我们利用具有良好水溶性和生物相容性的乙二醇壳聚糖高分子作为多位点锚定试剂的分子骨架, 将末端连有胆固醇分子的乙二醇链段接在高分子骨架上, 形成“乙二醇壳聚糖-聚乙二醇胆固醇”多位点锚定试剂。该试剂不仅保留了优良的水溶性和生物相容性, 而且细胞膜锚定效率高, 能够有效减缓被细胞内吞的速度, 从而获得较长的细胞膜滞留时间。

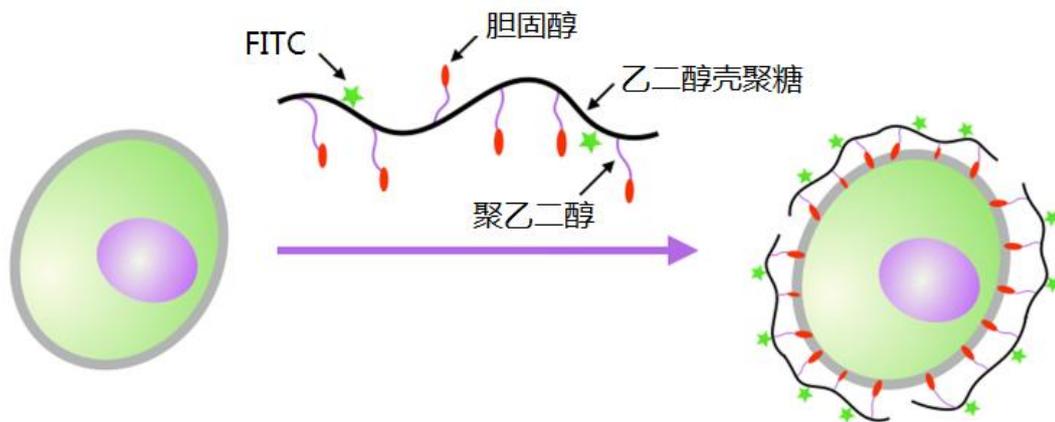


图 1 多位点锚定策略示意图

2、实验部分

2.1 实验材料

我们从 Sigma-Aldrich 公司购买乙二醇壳聚糖 (glycol chitosan)。从 Nanocs 公司购买 N-羟基琥珀酰亚胺酯-聚乙二醇 2000-胆固醇 (NHS-PEG2000-cholesterol) 分子。异硫氰酸荧光素 (FITC) 购置于泛博生化公司。透析袋 (截留分子量: 2K 和 10K) 购置于上海生工公司。

2.2 多位点锚定试剂的制备

以乙二醇壳聚糖高分子、N-羟基琥珀酰亚胺-聚乙二醇 2000-胆固醇为原料, 合成胆固醇锚定单元占壳聚糖重复单元数的百分比为 30% 的多位点锚定试剂, 即乙二醇壳聚糖-30% 聚乙二醇胆固醇。分别称取 5.0 mg N-羟基琥珀酰亚胺-聚乙二醇 2000-胆固醇、1.34 mg 乙二醇壳聚糖 (聚合度: 310; 平均分子量: 67000)。将二者分别溶于 PBS 缓冲液 (pH 7.4, 50 mM), 迅速混合均匀后, 在摇床中室温下反应过夜。反应结束后用截留分子量为 10k 的透析袋透析 3 天进行纯化, 最后在冻干机中冻干制得锚定试剂。

为了后续的荧光成像实验, 我们将少量的异硫氰酸荧光素 (FITC) 共价接枝在多位点锚定试剂上, 制成乙二醇壳聚糖-30% 聚乙二醇胆固醇-2% 异硫氰酸荧光素。取 1 mg 上述样品溶于 1 mL 碳酸钠/碳酸氢钠缓冲液 (pH 9.5, 50 mM), 并与 8.1 μL FITC 溶液 (溶于 DMF, 1 mg/mL) 混合均匀, 在摇床中室温下反应过夜。反应结束后用截留分子量为 2k 的透析袋透析 3 天进行纯化, 最后在冻干机中冻干制得样品。

2.3 多位点锚定试剂的表征

透射电子显微镜图使用 JEM-2100 电子显微镜观察。样品的粒径用 Malven Nano ZS 粒度分析仪测量。

2.4 细胞毒性实验

为了研究多位点锚定试剂在体外的细胞毒性, 选择了肺癌细胞 A549 进行评价。A549 用 DMEM 完全培养基培养, 其中混有 10% 的胎牛血清、100 U 青霉素和 100 mg/ml 链霉素, 培养在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中。首先将 A549 细胞接种在 96 孔板中过夜, 第二天, A549 和不同浓度的多位点锚定试剂 (浓度依次为: 0, 10, 25, 50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 以及不同浓度的乙二醇壳聚糖 (浓度依次为: 0, 10, 25, 50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 共同在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中孵育 1 天。接着, 在每个孔中加入 10 μL 的 MTT 溶液。37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中孵育 4 小时后, 向每个孔中加入 150 μL 二甲基亚砜。用 Multiskan FC 酶标仪 (Thermo) 测量 492 nm

处的吸收值。药物对细胞生长的抑制用以下公式计算：细胞活力 (%) = (加入药物的平均吸收值/对照组的平均吸收值) × 100%。

2.5 共聚焦成像实验

细胞接种于共聚焦显微镜专用的圆孔板中，用 DMEM 完全培养基培养，其中混有 10% 的胎牛血清、100 U 青霉素和 100 mg/mL 链霉素，培养在 37°C、5% CO₂ 的培养箱中。经过 1 天的孵育后，吸出原有的培养液，加入不同浓度的多位点锚定试剂染料，并继续在细胞培养箱中培养。一段时间后，吸出细胞培养液，用 PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，并立即用共聚焦显微镜 (CLSM, Leica TCS-SP8) 在 488 nm 激发的条件下观察。

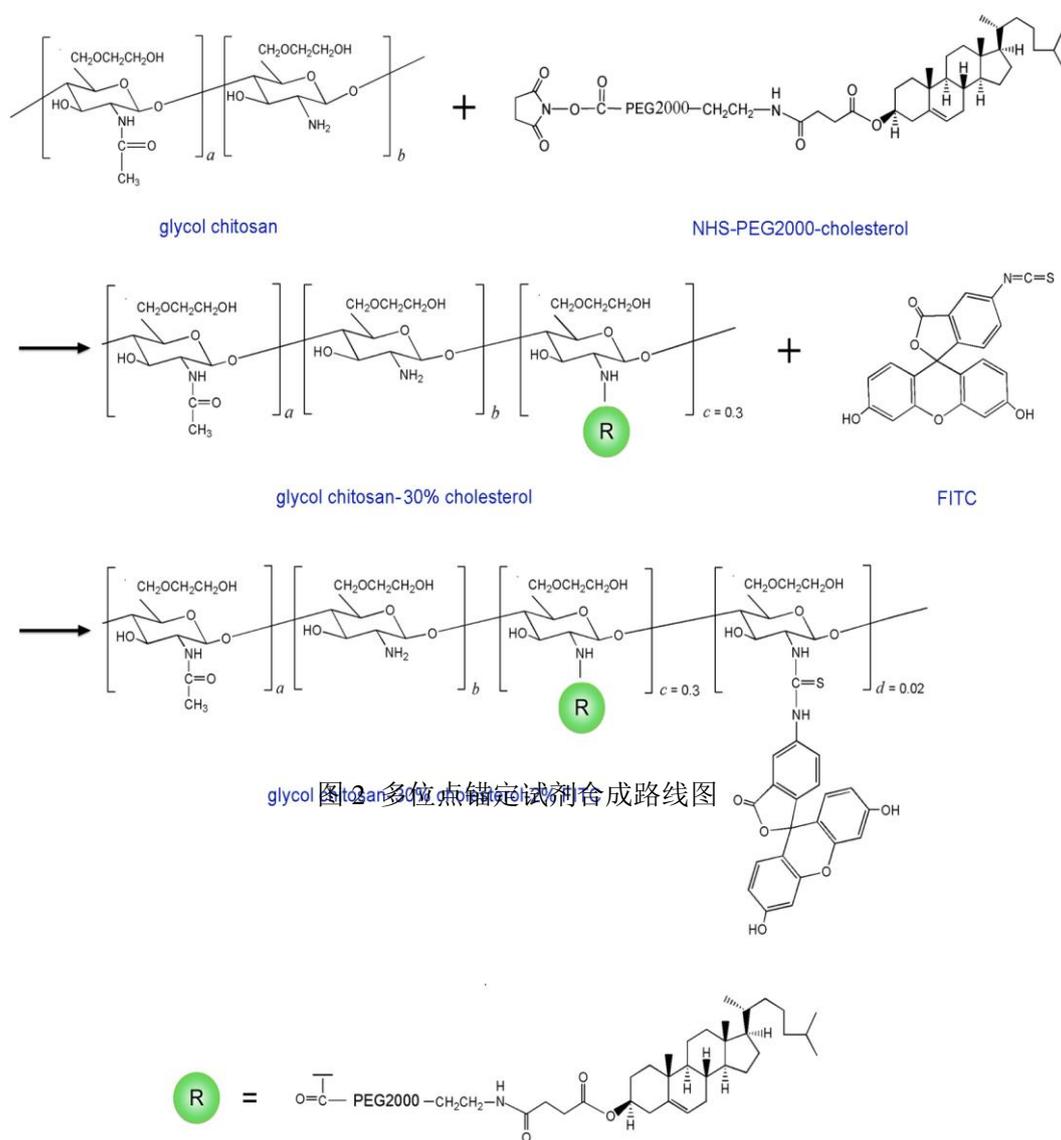


图2 多位点锚定试剂合成路线图

3、结果和讨论

所制得的 glycol chitosan-30% cholesterol-2% FITC 这种多位点锚定分子水溶性良好，能够在生理环境下稳定存在。胆固醇分子主要通过疏水相互作用以多位点的方式锚定在细胞质膜中，并把乙二醇壳聚糖和荧光分子锚定到细胞膜上。同时，乙二醇壳聚糖把各个疏水锚定单元和荧光单元联系在一起，当与细胞膜结合后可形成包被状网络结构，防止其被细胞内吞。

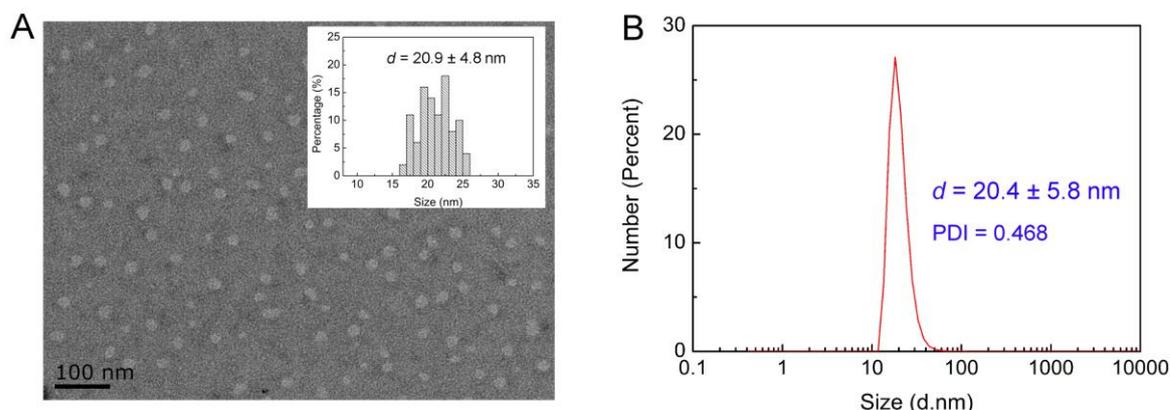


图 3 多位点锚定试剂 glycol chitosan-30% cholesterol-2% FITC 的透射电镜图 (A) 和由动态光散射 (DLS) 仪器得到的粒径分布 (B)

在图 3 中，透射电镜图显示多位点锚定试剂的粒径大小为 20.9 nm 左右，并且粒径分布均匀，呈现分散的圆球状。动态光散射结果与电镜表征相一致，粒径也基本在 20 nm 左右。两种表征结果显示这种多位点锚定分子在水溶液中很可能以单个大分子的形式存在，我们猜想壳聚糖侧链上的胆固醇分子由于疏水相互作用而聚集在内核，从而形成了较为致密的分子结构。

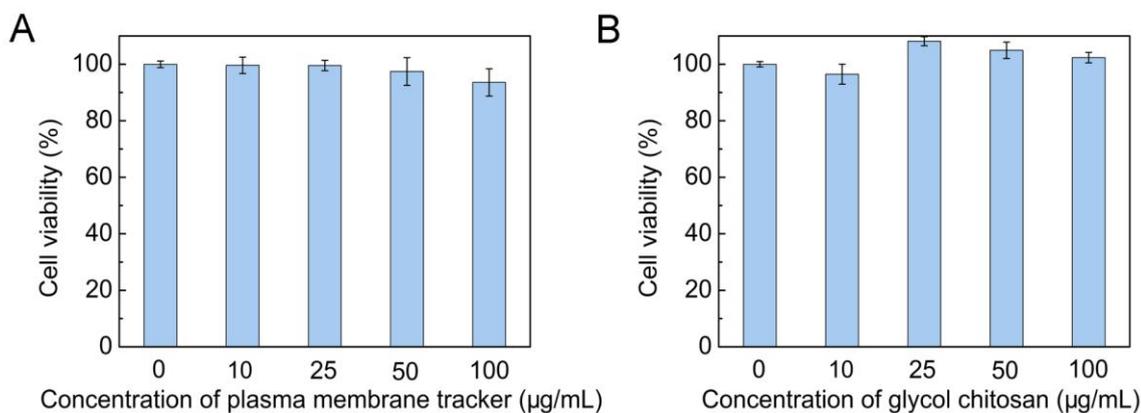


图 4 不同浓度的 glycol chitosan-30% cholesterol-2% FITC (A) 和 glycol chitosan (B) 的细胞毒性

为了探究乙二醇壳聚糖高分子以及合成的多位点锚定试剂的细胞毒性，我们将不同浓度的试剂与细胞共孵育 24 小时后，进行 MTT 毒性评价试验。如图 2-3 所示，在 100 µg/mL 以下两种物质均无明显的细胞毒性。证明这两种物质具有良好的生物相容性。该锚定试剂的低毒性主要是由于其组分构成均为安全的生物材料。首先乙二醇壳聚糖为壳聚糖衍生物，而壳聚糖是一种天然的糖类大分子，广泛存在于自然界当中。我们生活中常见的蟹壳、虾皮等物质，它们的主要成分几丁质，经过脱乙酰化之后就得到了我们所说的壳聚糖。聚乙二醇早已作为药物载体组分而大规模应用于临床当中；而胆固醇分子更是细胞膜固有成分之一。

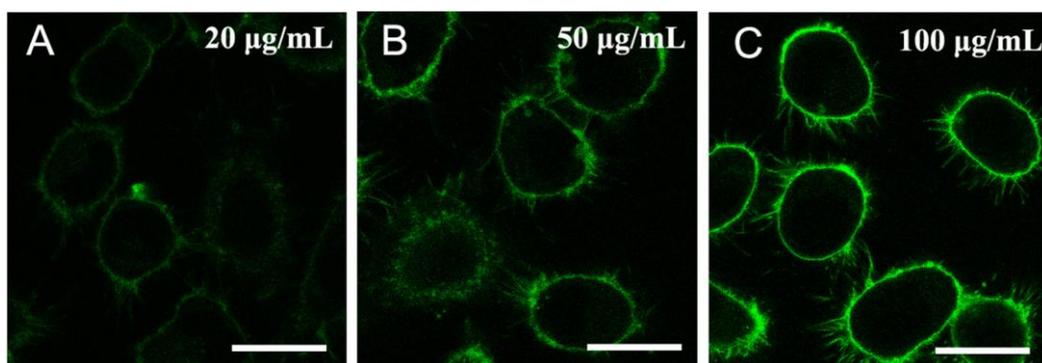


图 5 不同浓度（20、50 和 100 $\mu\text{g/mL}$ ）的多位点锚定试剂对细胞细胞的染色效果图

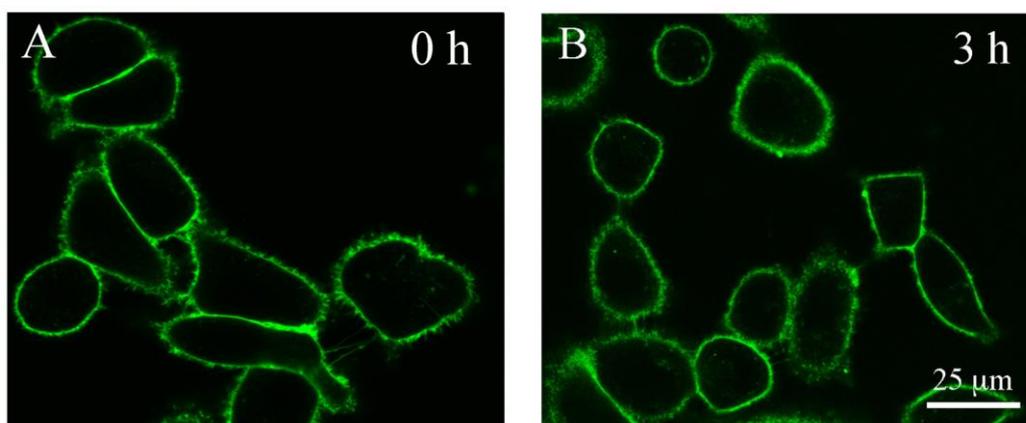


图 6 多位点锚定试剂与细胞孵育 1 小时和 3 小时后的共聚焦成像图

通过在多位点锚定试剂上共价接枝上 2% 的 FITC, 我们可以直观地在共聚焦显微镜下观察到该试剂与细胞的作用效果。不同浓度的多位点锚定染料先与细胞共孵育 5 分钟后, 用 PBS 缓冲液洗去游离的染料分子, 然后立即在共聚焦显微镜下观察染色效果。图 2-4 显示, 锚定试剂的染色效果随浓度的提高而增强。这主要是由于有更多的锚定分子结合在细胞膜上, 使得荧光分子大量聚集在细胞膜表面。从图中可以看出, 染料浓度在 $20 \mu\text{g/mL}$ 时细胞膜成像效果很差, 荧光强度很低; 而浓度为 $50 \mu\text{g/mL}$ 时细胞成像效果有所改善, 细胞膜边界较为清晰; 当锚定染料试剂浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 时细胞膜边界的细节可以得到非常清晰的观察。这展现出该锚定试剂在细胞膜染色方面的出色效果。此外, 该分子也具有极强的细胞膜锚定能力, 即只需要 5 分钟的孵育时间即可迅速结合在细胞表面, 这主要是由于胆固醇分子在插膜能力上的独特优势。

对于目前市售的商品化细胞膜染色试剂, 如 DID 等, 在与细胞孵育 15 分钟以上就会被细胞内吞, 从而极大地影响了细胞膜的成像效果。为了探究该多位点锚定试剂在长时间范围内与细胞的作用情况, 我们将 $50 \mu\text{g/mL}$ 的 glycol chitosan-30% cholesterol-2% FITC 分别于细胞孵育 0 小时和 3 小时, 用 PBS 缓冲液清洗 3 遍后置于共聚焦显微镜下观察。实验结果显示, 该试剂在与细胞孵育 3 小时后仍不被细胞内吞, 绝大部分锚定试剂都集中在细胞膜上。这可能是由于基于壳聚糖高分子的多位点锚定试剂在细胞膜表面形成包被网状结构, 从而在很大程度上抑制了锚定药物进入细胞内部。

除此之外, 我们还探究了不同胆固醇含量的多位点锚定试剂的对于细胞膜的锚定效果。即合成 glycol chitosan-10% cholesterol-2% FITC 以及 glycol chitosan-30% cholesterol-2% FITC, 通过在共聚焦显微镜下观察染色效果来评价两种试剂的锚定能力。实验结果如图 2-5 所示, 30%胆固醇接枝率的锚定分子的荧光强度要明显强于 10%胆固醇接枝率的分子, 证明

有更多的锚定试剂结合到细胞膜上。这表明在一定范围内多位点锚定试剂的锚定能力是与胆固醇含量成正比的。胆固醇含量高的试剂就像拥有更多的“手臂”，可以更迅速、更牢固地与细胞膜结合，从而使更多的多位点试剂锚定在细胞表面。

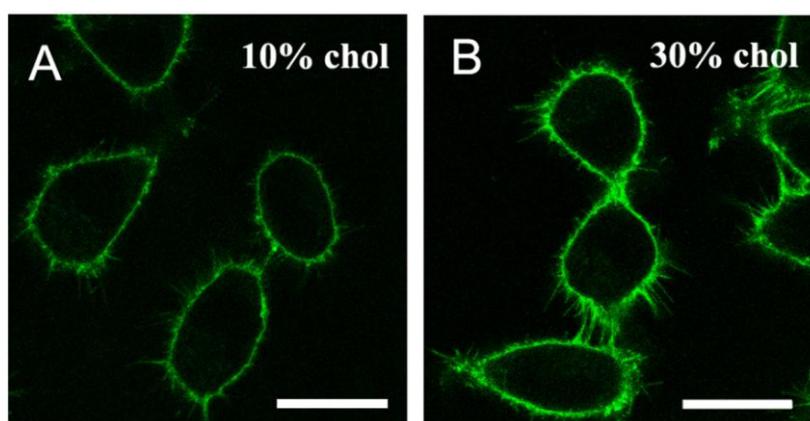


图 7 glycol chitosan-10% cholesterol-2% FITC (A) 以及 glycol chitosan-30% cholesterol-2% FITC (B) 对细胞的染色效果图

结 论

- 1、基于乙二醇壳聚糖高分子的多位点锚定试剂具有水溶性好，在生理环境中稳定存在，细胞毒性低和锚定迅速等优势。
- 2、相比单位点锚定试剂，基于乙二醇壳聚糖高分子的多位点锚定试剂具有不易被细胞内吞的特点，这在延长细胞修饰时间方面具有重要意义。
- 3、接枝有 FITC 荧光分子的多位点锚定试剂本身就是一种效果优良的膜染色试剂，可以非常细腻地实现细胞膜的示踪，在研究包括细胞分裂、细胞凋亡以及胞吞胞饮等细胞行为方面具有广阔的应用前景。
- 4、由于乙二醇壳聚糖高分子带有许多伯胺，非常容易进行后续化学修饰，因此通过将这种多位点锚定试剂功能化，可以实现包括细胞靶向识别、抗癌载药、细胞膜标记以及光疗在内的诸多应用。

综上所述，以乙二醇壳聚糖为主链，以聚乙二醇胆固醇分子为侧链合成的多位点锚定试剂具有优良的生物材料学性能，可以以此为构架拓展应用。

致 谢

本论文是在东南大学生物科学与医学工程学院吴富根教授和贾浩然师兄的指导下完成的，特此致谢！

Plasma membrane imaging based on a multisite anchoring strategy

Sang Na

Abstract: Plasma membrane imaging has received substantial attention due to its capability for dynamically tracing significant biological processes including cell trafficking, vesicle transportation, apoptosis, etc. In this work, glycol chitosan, a multifunctional biomaterial derived from natural polymers, was used for the first time to image the plasma membranes based on a strategy of multisite membrane anchoring. A glycol chitosan derivative, glycol

chitosan–cholesterol–FITC (Chito–Chol–FITC), was synthesized by using glycol chitosan as the backbone, and PEG–cholesterols and FITC molecules as side chains. The cholesterol groups and FITC molecules serve as hydrophobic anchoring units and fluorescent units, respectively. The present work shows the biomacromolecular assembly of the glycol chitosan derivative on the cell surface, which may shed new light on the interactions of biomaterials with biological systems. Besides, the multisite membrane anchoring strategy developed herein also provides a novel platform for future cell surface engineering studies.

Key words: glycol chitosan; multisite anchoring; plasma membrane.

简易红外系统的设计

沈琤

(金陵中学, 南京)

摘要: 红外通信技术是当今世界范围内被广泛采用的一种短距离无线通信技术。本课题设计了一个简单的数字红外通信系统。在系统的发送端, 单片机获取四位拨码开关的状态后, 对数字信号进行ASK调制, 调制后的模拟信号经滤波放大后, 通过红外发射管发射出去; 在系统的接收端, 红外接收管接收信号后, 首先进行放大滤波, 再通过包络解调恢复为数字信号, 送至单片机, 控制数码管显示拨码开关状态。实际的测试结果表明, 该系统可以实现数字信号的准确传输。

关键词: 红外通信 调制 解调 幅移键控

1 引言

1.1 红外通信介绍

通信系统是用以完成信息传输过程的技术系统的总称。现代通信系统主要借助电磁波在自由空间的传播或在导引媒体中的传输机理来实现, 前者称为无线通信系统, 后者称为有线通信系统。

有线通信系统利用金属导体为传输媒介, 如常用的通信线缆等; 无线通信系统利用无线电波在大气、空间、水或岩、土等传输媒介中传播而进行通信。

当电磁波的波长达到光波范围时, 这样的电信系统称为光通信系统。光通信系统也有“有线”和“无线”之分, 它们所用的传输媒介分别为光学纤维和大气、空间或水。

自然界中的一切物体, 只要它的温度高于绝对温度(-273℃)就存在分子和原子无规则的运动, 其表面就不断地辐射红外线。红外线是一种电磁波, 它的波长范围为 760nm~ 1mm, 不为人眼所见。利用红外线来传输信号的通信方式, 叫红外通信。

红外通信属于无线通信领域, 它以红外线为载体将信息从发射机传到接收机, 从而实现信息传递的功能。

红外数字通信是利用近红外波段的红外线作为传递信息的媒体, 即通信信道。发送端将基带二进制信号调制为一系列的脉冲串信号, 通过红外发射管发射红外信号, 接收端将接收到的光脉转换成电信号, 再经过放大、滤波等处理后送给解调电路进行解调, 还原为二进制数字信号后输出。

1.2 红外通信技术的特点

目前, 无线通信逐渐发展为一种主流的通信方式, 红外通信一般采用红外波段内的近红外线, 波长在 0.75 μm ~25 μm 之间。

- 1) 红外无线系统的探测器的尺寸比红外光的波长大得多, 因此衍射衰减的影响很小。
- 2) 根据光的独立性传播原理, 红外通信之间无相互干扰。
- 3) 当前, 红外光信号传输基本上采用强制, 所以红外光接收器只需探测光信号的强度, 这就使得红外通信设备比无线射频通信设备结构简单, 造价低廉。
- 4) 红外光带宽宽, 和现代无线电通信设备没有干扰和频带资源冲突, 无需频率申请, 因此可以提供较高的数据传输速率。
- 5) 红外无线系统无需电缆连接, 不怕散射电磁波干扰, 耗电量少, 体积小, 成本低, 方向性好, 加密后不易被侦听, 从而增强了通信的安全性。

这些优点都使得红外无线系统进入了更加广泛的应用之中, 在许多领域比无线射频系统具有更广阔的应用前景。

红外通信技术适合于低成本、跨平台、点对点高速数据连接，尤其是嵌入式系统，红外光通信装置具有体积小、功耗低、连接方便、简单易用、安全性高、成本低廉等优点，十分适应当前人们生产、生活对移动通信技术的要求。

1.3 红外通信的研究与应用现状

当前我国经济已进入快速发展阶段，通讯技术已经在各个领域得到广泛应用。由于红外光通信装置具有体积小、功耗低、连接方便、系统稳定可靠、安全性高、成本低廉等优点及特点，使得它目前主要应用在各种低成本、近距离的数据通信中。红外通信系统的设计是光通信系统的一个重要分支。

红外通信系统已广泛应用于安防监控领域、通讯领域、汽车夜视系统、医疗器械行业、家庭电子行业等。由于红外线对人体健康尤其对人的眼睛无任何伤害作用，尤其是在小型移动设备（笔记本电脑、移动电话等）互换数据和电器设备的控制中，红外光信发挥着重要作用。

红外通信具有隐蔽性，保密性强，故国外军事通信机构历来重视这一技术的开发和应用。这一技术在军事隐蔽通信，特别是军事机密机构、边海防的点对点通信中发挥着重要的作用。

由于红外线的直射特性，红外光通信受障碍物影响较大，属于视距传输；要求通信设备的位置固定，限于点对点的传输连接，无法灵活地组成网络；信息传输效率也有提高的空间，因此，目前研究的主要方向是如何解决视距传输问题和提高数据传输效率。

2 通信中调制和解调的基本概念

由于从信息变换过来的原始信号具有频率较低的频谱分量，这种信号在许多信道中不适宜直接进行传输。因此在通信系统的发送端通常需要有调制过程，而在接收端则需要有反调制过程—解调。

2.1 调制解调

2.1.1 调制解调概念

调制是将各种基带信号转换成适于信道传输的数字调制信号（已调信号或频带信号）。通常调制可分为模拟（连续）调制和数字调制两种方式。在模拟调制中，调制信号的取值是连续的，而数字调制中的调制信号取值则是离散的。

调制在通信系统中具有重要作用，通过调制，不仅可进行频谱搬移，把调制信号的频谱搬移到所希望的位置上，从而将调制信号转移至适合于信道传输或便于信道多路复用的信号，而且它对系统的传输有效性和传输可靠性有着很大影响，调制方式往往决定了一个通信系统的性能。

解调是从携带消息的已调信号中恢复消息的过程。在各种信息传输或处理系统中，发送端用所欲传送的消息对载波进行调制，产生携带这一消息的信号。接收端必须恢复所传送的消息才能加以利用，这就是解调。

2.1.1.1 调制解调的时域定义

调制就是用基带信号去控制载波信号的某个或几个参量的变化，将信息荷载在其上形成已调信号传输，而解调是调制的反过程，通过具体的方法从已调信号的参量变化中将恢复原始的基带信号。

2.1.1.2 调制解调的频域定义

调制就是将基带信号的频谱搬移到信道通带中或者其中的某个频段上的过程，而解调是将信道中来的频带信号恢复为基带信号的反过程。

2.1.2 调制解调分类

调制的目的是把要传输的模拟信号或数字信号变换成适合信道传输的信号，这就意味着把基带信号（信源）转变为一个相对基带频率而言频率非常高的带通信号。该信号称为已调

信号，而基带信号称为调制信号。调制可以通过使高频载波随信号幅度的变化而改变载波的幅度、相位或者频率来实现。调制过程用于通信系统的发端。在接收端需将已调信号还原成要传输的原始信号，也就是将基带信号从载波中提取出来以便预定的接受者（信宿）处理和理解的过程。该过程称为调制解调。

根据所控制的信号参量的不同，调制可分为：

调幅 (AM)，使载波的幅度随着调制信号的大小变化而变化的调制方式。

调频 (FM)，使载波的瞬时频率随着调制信号的大小而变，而幅度保持不变的调制方式。

调相 (PM)，利用原始信号控制载波信号的相位。

解调是调制的逆过程。调制方式不同，解调方法也不一样。与调制的分类相对应，解调可分为正弦波解调（有时也称为连续波解调）和脉冲波解调。正弦波解调还可再分为幅度解调、频率解调和相位解调，此外还有一些变种如单边带信号解调、残留边带信号解调等。同样，脉冲波解调也可分为脉冲幅度解调、脉冲相位解调、脉冲宽度解调和脉冲编码解调等。对于多重调制需要配以多重解调。

解调过程大体上包含两个主要环节：首先把位于载波附近携带有用信息的频谱搬移到基带中，然后用相应的滤波器滤出基带信号，完成解调任务。

2.2 数字调制

2.2.1 数字调制的概念

所谓数字调制，就是用待传输的数字基带信号去控制载波的参量，使之随数字基带信号的变化过程。数字调制与模拟调制在本质上并无差异，都是为了使待传输的基带信号适合于信道上传输，在原理上两者也相似。在数字调制中，待传输的数字基带信号也可称为调制信号，调制后所得到的信号则称为已调信号，所用的载波，在大多数数字通信系统中，都是选择正弦信号，这是因为正弦波信号简单，便于产生和接收。

在接收端，把已调信号还原成数字基带信号的过程，称为数字解调。为了称呼方便，通常把数字调制及解调合起来统称数字调制。数字调制系统模型如图 1 所示。

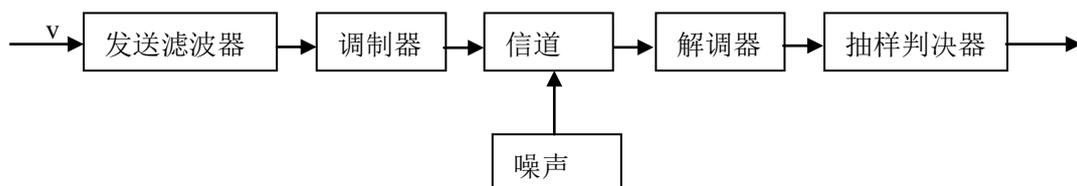


图 1 数字调制系统模型

2.2.2 数字调制的类型

数字调制的种类很多，根据数字基带信号所控制的参量不同，数字调制有数字振幅调制（数字调幅）、数字频率调制（数字调频）、数字相位调制（数字调相）三种基本形式。由于数字基带信号只能取离散的有限个值，所以相应的载波参量也只能取离散的有限个值，已调信号可以看成是由数字基带信号去控制开关对不同参量的载波进行切换的结果，这种实现方法称为键控法，因此，通常把上述三种基本的数字调制方式，分别称为振幅键控、频率键控和相位键控。

数字基带信号可以是二进制的，也可以是多进制的，因此，数字调制有二进制调制和多进制数字调制之分。

2.2.3 二进制数字调制与解调

2.2.3.1 二进制振幅键控

振幅键控 (ASK-Amplitude Shift Keying) 又称为幅度键控或幅移键控，它是数字调制中

出现最早的,也是最简单的一种方式。这种方式最初用于电报系统,但由于它的抗噪声性能差,故在数字通信系统中用得不多。不过,在信道条件较好的数字通信系统中也还有用,而且二进制振幅键控是研究其他数字调制方式的基础。

2.2.3.2 二进制频率键控

频率键控(FSK-Frequency Shift Keying)又称为频移键控,它在短波通信中应用较广泛,这是因为它除了设备简单,调制解调方便外,更重要的是这种调制方式具有较好的抗多径时延性能。

2.2.3.3 二进制相位键控

相位键控又称为相移键控或移相键控,由于它在抗噪声性能上优于ASK和FSK,而且信道频带利用率可做得较高,因此被广泛应用于数字通信中。

二进制相位键控就是利用二进制数字基带信号去控制载波信号的相位,使载波的相位发生跳变的调制方式。

根据用载波相位表示数字信息的方式不同,相位键控又分为绝对移相键控和相对移相键控两种。

绝对移相键控(PSK-Phase Shift Keying),是利用已调信号中载波的不同相位直接来表示数字基带信号。

相对移相键控(DPSK-Differential Phase Shift Keying),又称为差分相位键控,它是利用前后相邻码元之间已调信号中载波相位的相对变化来表示数字基带信号的。载波信号的相对变化通常是指本码元初相与前一码元的终相比较,是否发生相位变化。

3 系统的方案设计与实现

3.1 系统的技术方案设计分析与比较

3.1.1 处理器的选择

方案1:利用单片机进行处理。单片机的优势在于控制方便,但处理速度受到一定限制。

方案2:利用FPGA进行处理。FPGA的优势在于传输数据速度快、稳定,可以并行处理。

本系统经过A/D采样后的数据量不是很大,单片机和FPGA都能够满足其数据处理要求,考虑到成本因素,选择方案1。

3.1.2 数字调制解调方式

本课题所研究的红外通信装置用来要传输数字信号,需要对数字信号进行调制,才能在红外通信信道进行传输。

方案1:PSK是根据数字基带信号的两个电平使载波相位在两个不同的数值之间切换的一种相位调制方法。但是解调只能采用相干解调,在实际应用中,实现难度较大,没有采用此方案。

方案2:ASK调制,载波幅度是随着调制信号的变化而变化的。其最简单的形式是,载波在二进制调制信号控制下进行幅度调制,接收端可以采用高速的开关二极管进行包络检波,然后整形恢复出数字信号。实现难度较小。

结合以上分析,本课题选用ASK调制方式,解调采用1N4148高速开关二极管进行检波。

3.1.3 红外发射

本课题采用了分立的红外发射管作为发射电路,为了使发射效果达到最好,有如下方案:

方案1:采用一对红外发射对管,发射端加上聚光杯,但是仅仅一对红外管的发射功率比较低,传输2米比较困难,信号衰减较大。

方案 2: 采用多个发射管串联可以提高光强和发射电流, 但是发射的光强较散, 接收的红外信号不容易聚集。

方案 3: 多个红外管并联接收, 采用单个发射管加聚光杯, 这样可以使发射红外光更好地聚集, 接收端接收的效率也比较高, 可以增大传输距离。

综合各种方式, 采用方案 3 进行调试。

3.2 系统组成及工作原理

系统框图如图 2 所示, 单片机通过拨码开关获得数字信号, 以 1.2K 波特率的速度串口发送至门电路, 完成 ASK 调制。由红外发射电路将调制信号发送, 信号到达接收端后, 先进行跟随放大, 然后通过高通滤波器, 滤出语音信号, 进行比较器整形, 最后由二极管 1N4148 包络解调, 经驱动电路送至接收端单片机显示输入量值。

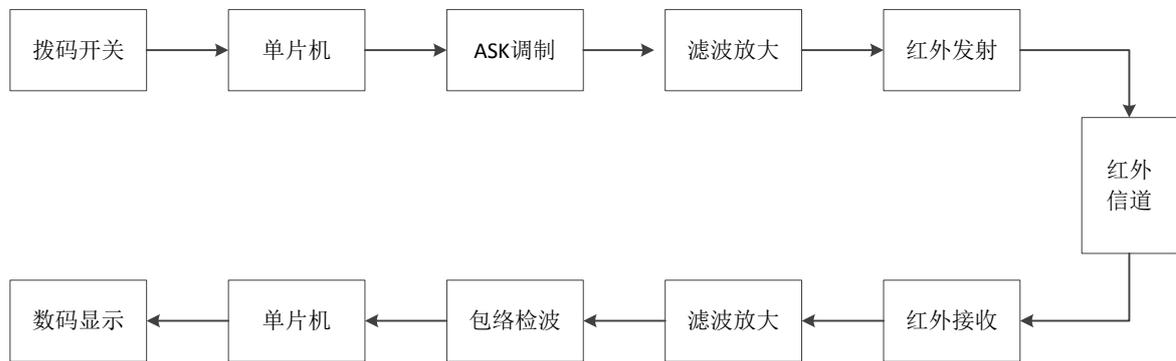


图 2 数字红外通信系统实现框图

3.3 核心部件电路设计

系统方案确定后, 进行了以下核心电路设计: 红外发射电路、带通滤波模块、比较器模块、包络检波模块。

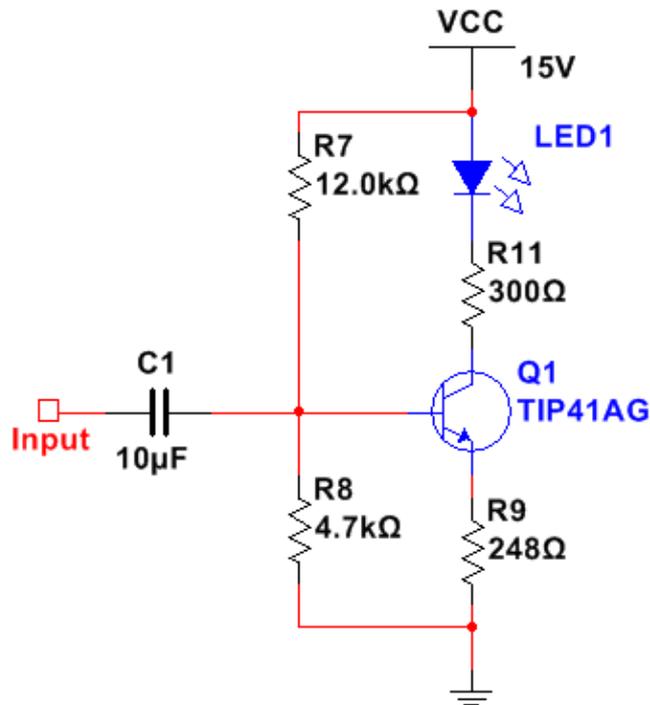


图 3 红外发射电路

3.3.1 红外发射电路

红外发射电路如图 3，由三极管单管驱动电路，通过改变集电极上电流的大小从而改变红外发光管的光强，达到将信号转化为光强发射的目的。

3.3.2 带通滤波模块

由于语音信号的范围为 300Hz~3.4kHz，可设计二阶有源滤波器截止频率为 100Hz，采用切比雪夫 0.1dB 二阶有源滤波器，低通滤波器选用截止频率为 8kHz 的二阶巴特沃斯有源滤波，原理图如图 4 所示。

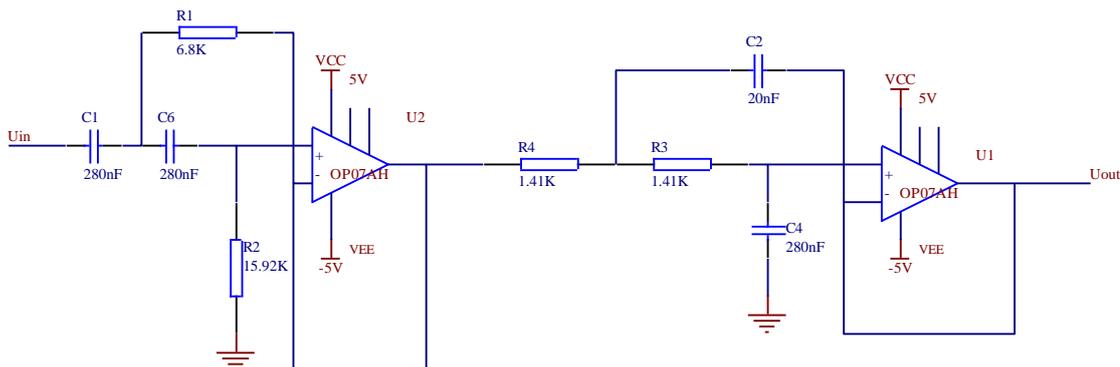


图 4 带通滤波模块

3.3.3 比较器模块

将调制信号恢复为包络比较好的数字信号，以便进行下一包络解调，这里我们采用了 LM311 比较器芯片，比较电路如图 5 所示。

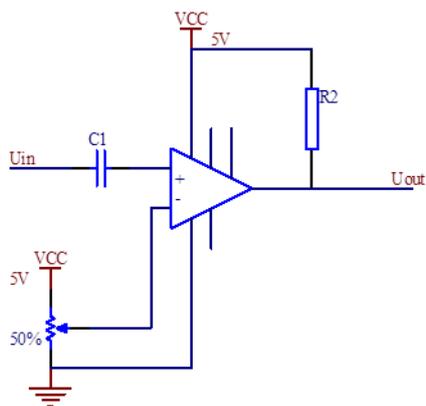


图 5 比较器模块

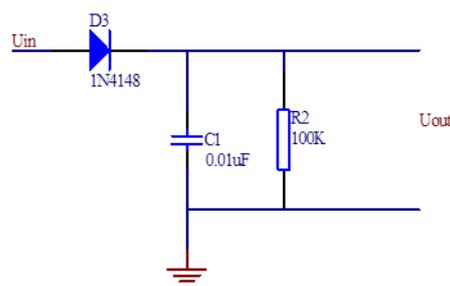


图 6 包络检波模块

3.3.4 包络检波模块

根据需要检波的频率，选用高速开关二极管 1N4148，选取 $R=100k\Omega, C=0.01\mu F$ 。RC 电路有两个作用：一是作为检波器的负载，在两端产生解调输出的原调制信号电压；二是滤除检波电流中的高频分量。电路如图 6 所示。

3.3.5 系统的实物图

系统实物如图 7 和图 8 所示。

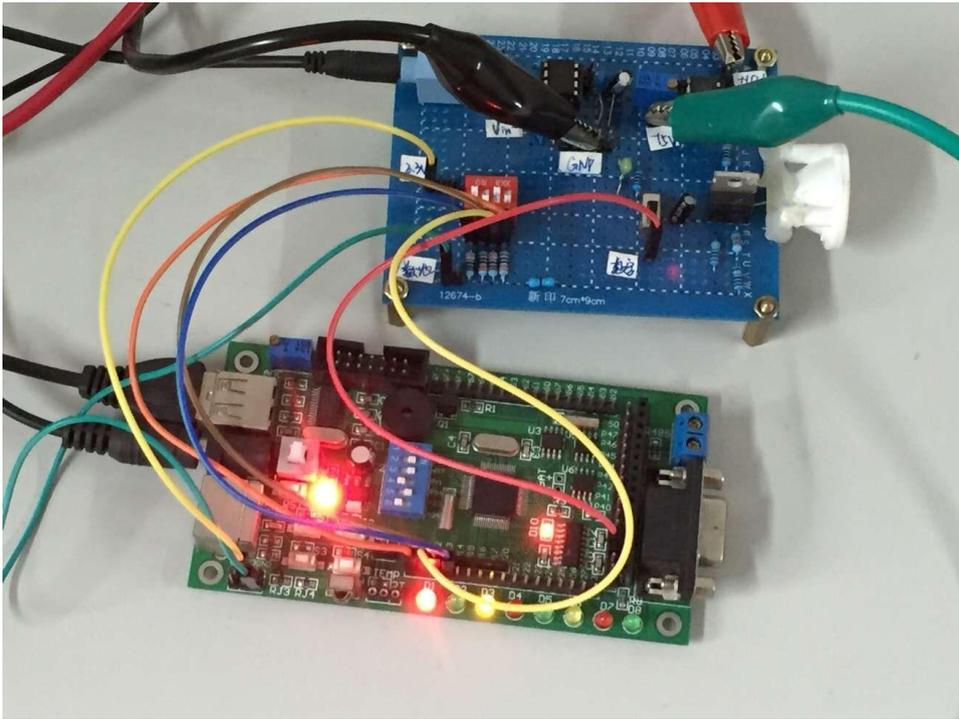


图 7 系统发送模块实物图

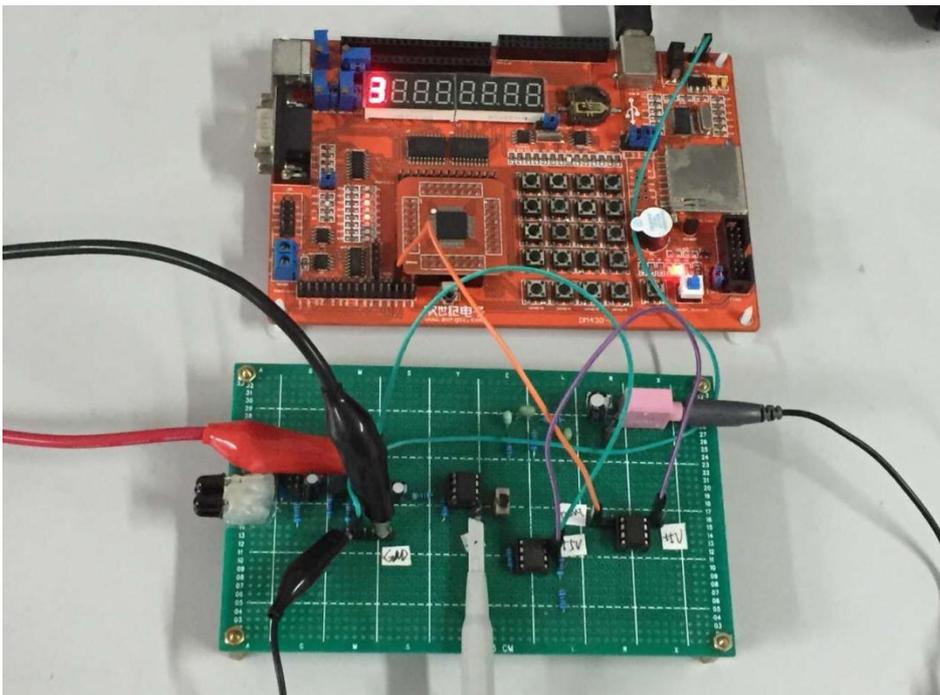


图 8 系统接收模块实物图

4 系统调试与测试结果

4.1 调试方案与测试仪器

在常温常湿条件下进行系统调试。

系统整体测试方案是：用示波器、数字万用表测量系统无输入时输出端噪声电压，再测量信号稳定传输情况下的最大通信距离；然后再对数字通信功能进行测试。

具体调试步骤为：用 40MHz 函数信号发生器作为信号源，分别输入频率为 300Hz、500Hz、800Hz、1200Hz、1800Hz、2200Hz、2600Hz、3000Hz、3400Hz、3800Hz，幅值为 0.01V、0.02V、0.03V、0.04V、0.05V、0.06V 等用的信号，用 70MHz 双通道示波器 RIGOLDS2072 监测输入、输出信号，记录输入输出信号值并观察噪声情况；设置拨码开关，使用示波器观测单片机发送和接收的数字信号，以及反射端和接收端的 ASK 调制信号，存储并记录拨码开关的设置情况以及单片机发送和接收的数字信号、反射端和接收端的 ASK 调制信号。

以上所述的测试指标均为最终的指标，在调试过程中依靠这些指标往往难以发现问题所在。根据之前所述可知红外管是影响整个系统的性能的关键，因此在调试过程中主要是用示波器双踪送入红外发射管的信号波形和接收端比较器的输出，进行对比就可以看出信号在传输过程中的失真情况，如果有失真，则需要调节接收端的电路元件参数。

测试时使用的仪器仪表主要有：350MHz 双通道示波器 Agilent MSO-X4032A；直流稳压源 OF1731SC2A；120MHz 函数信号发生器 Suin TFG6120；FLUKE 6 位半数字万用表。

4.2 单音信号频率为 800Hz 时测试数据

测试数据如表 1 所示。

负载 8Ω；单音信号频率：800Hz；测试距离：2m；波形条件：无明显失真。

表 1 单音信号频率 800Hz 时测试数据

序号	单音信号频率/Hz	输入信号/V	输出信号/V
1	800	0.01	0.55
2	800	0.02	1.05
3	800	0.03	1.56
4	800	0.04	2.06
5	800	0.05	2.56
6	800	0.06	3.12

减小输入信号至 0V，输出噪声电压为 7.5mV。

4.3 系统模拟通信测试数据统计结果

改变单音信号频率（从 300~3400 Hz 中取多个频率点，包括 300 Hz、3400 Hz）对系统进行了多次测试，系统测试统计结果如表 2 所示。

表 2 系统测试数据统计表

测试内容	测试结果
传输频率范围 / Hz	300~3400
红外稳定传输距离 / m	5
无输入时输出端噪声电压 / V	< 0. 1

4.4 系统数字通信测试

对数字通信功能进行测试。测试时使用示波器观测单片机发送和接收的数字信号，以及反射端和接收端的 ASK 调制信号。

系统的 ASK 调制波形和数字信号波形分别如图 9 和图 10 所示。数字信号传输功能正常，发送端在改变拨码开关的状态时，接收端实时显示开关状态的变化。

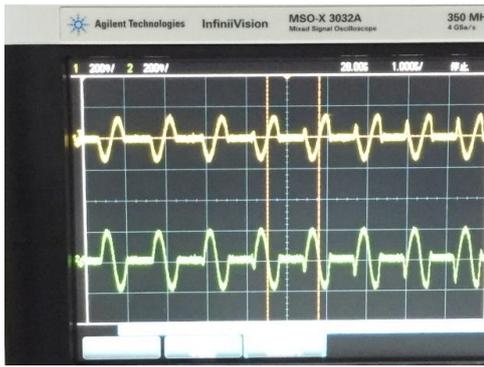


图 9 系统发送和接收端的 ASK 信号波形

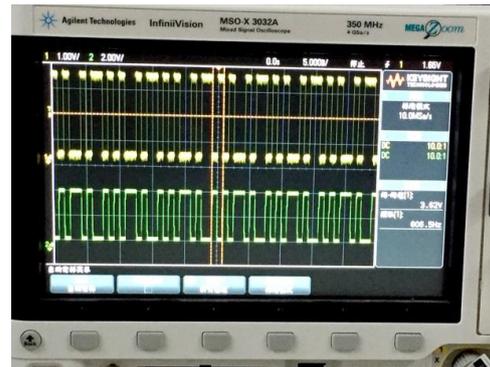


图 10 系统发送和接收端的数字信号波形

结 论

本文设计的数字红外通信系统，利用红外通信信道，完成了数字信号的调制和模拟信号在红外信道的传输，以及红外信号的接收和解调，直至完成数字信号的传输功能。系统可以在 300Hz~3400Hz 频率范围内，实现 5m 内微弱模拟信号和数字信号的稳定传输，输出噪声电压小于 0.01V。测试结果说明整个系统达到了设计要求。

通过该课题实践，掌握通信技术的基本理论，提高了理论水平；通过红外通信装置的设计、调试掌握了红外发射和接收电路、信号放大模块、滤波电路等电路的设计、调试方法。

系统设计的红外通信装置具有体积小、功耗低、性能稳定、成本低廉、无电磁信号污染等特点，因而具有较好的实用价值，可应用于小型移动设备中，亦可通过拓展、完善推广应用至安防监控、通讯等领域中。

致 谢

首先衷心感谢我的导师东南大学信息科学与工程学院的张圣清老师，感谢您在专业及课题上对我的指导，在课题设计制作期间给予我的关心和帮助。更感谢您为我提供良好的学习和实践环境，让我能够进入我所喜欢的领域自由的学习和研究。

感谢东南大学信息科学与工程学院的本科生徐颖群和沈浩同学在电路制作和调试过程中给予的指导。

最后感谢我的父母多年来对我无微不至的关心和默默无闻的支持。

The Design of an infrared digital communication system

Shen Cheng

Abstract: The infrared communication technology is a short-range wireless communication technology which is widely used in the world today. In this paper, a simple digital infrared communication system is designed. The system with infrared communicator which based on LM386 audio power amplifier and the infrared emission tube as the core is made of the infrared emission module, the infrared receiving module ,bandpass filter ,comparator module ,envelope detection module and the power amplifier module. When the singlechip obtain the status of four bit dial switches for the sending end of the system, it will modulate of ASK to digital signal, then the modulated of analog signals will be filtered and amplified, last it be sent up by the infrared emission tube. For the receiving end of the system, when the infrared receiving tube receiving

signal, the signal will be filtered and amplified, then recover to digital signal by envelope demodulation senting to singlechip for control digital tube display dial code switching state. The system uses multistage power amplifier to solve the problem of signal attenuation in the transmission of low frequency analog signal and digital signal, moreover could effectively filter the electromagnetic interference.The actual test results show that the system can realize the accurate transmission of digital signal.

Key words: Infrared communication Modulation Demodulation Amplitude shift keying

参考文献:

- [1] 柏军,胡屏.一种用于单片机的红外串行通信接口[J].单片机与嵌入式系统应用 8 (2003): 17-19
- [2] 堵国樑,胡仁杰,全国大学生电子设计竞赛.南京:东南大学出版社,2007
- [3] F G Stemler.Introduction to Communication Systems,Holt,Rinehait and Winston,1983
- [4] 樊昌信,通信原理[M].北京:国防工业出版社,2007
- [5] Haykin , Simon. Communication systems. Wiley Publishing, 2009
- [6] J G Proakis,et al.Communication Systems Engineering 2nd Ed. 叶芝慧等译.北京:电子工业出版社,2002
- [7] L W Couch. II Digital and Analog Communication Systems 6th Ed.徐平等译.北京:电子工业出版社,2002
- [8] 马静波.基于 IrDA 标准的红外无线数字通信及应用 [J].信息技术,2005,29(3): 46-47, 51
- [9] 文俊峰,乔晓军,王成,等.便携红外收发器的设计与实现[J].光电子技术,2006,26(4): 234-238
- [10] 童诗白,华成英,等.模拟电子技术基础[M].北京:高等教育出版社,2000
- [11] 王秉钧.通信系统(修订版)[M].西安:西安电子科技大学出版社,2004。
- [12] 于洪珍.通信电子线路[M].北京:清华大学出版社,2012
- [13] 张顺兴.数字电路与系统设计[M].南京:东南大学出版社,2004
- [14] 赵力.语音信号处理[M].北京:机械工业出版社,2009

基于双重修饰的长时间细胞膜荧光成像

施天璇

(金陵中学, 南京)

摘要: 本项工作合成并探究了一种可使细胞膜长时间清晰成像的荧光试剂。在导师及学长的帮助与指导下, 我查阅了相关文献, 并且合成该试剂, 对其进行表征, 测验其实际成像效果和细胞毒性。实验结果表明这种基于双重修饰的细胞膜成像试剂可长时间附着于膜上, 不易脱落或被内吞, 能够实现包括正常细胞与癌细胞在内的不同种类的细胞膜成像, 同时该试剂的另一大亮点是生物相容性好, 细胞毒性极低。这种新型的细胞膜成像试剂对于研究细胞膜上进行的生物学行为有较重要的意义, 应当有很大的应用前景。

关键词: 细胞膜 双重修饰 长时间成像

1 前言

细胞膜作为细胞的边界, 不仅能为细胞提供一个相对稳定的内环境, 也对细胞与外界环境之间的物质运输、能量转换和信息传递过程也起着至关重要的作用。细胞膜成像技术作为一种有力的研究手段, 利用荧光染料对细胞膜进行标记和示踪, 可以直观地表现出包括细胞分裂^[1]、胞饮胞吐^[2]、信号传导^[3]及凋亡^[4]在内的许多重要的生物学过程。然而, 传统的一些亲脂性染料很快会发生内吞现象, 成像时间短, 不利于长时间观察细胞膜表面的生物学行为。如目前市售的荧光染料 DiI 及 DiO 等, 有效成像时间只有 10 分钟左右, 染料会被细胞内吞, 从而失去了研究细胞膜的效果。为了延长有效染色时间, 减少染料内吞, 已经有新型染料分子被研制出来, 主要利用带有负电荷的亲脂性基团起锚定作用延长细胞膜染色时间, 但染色也只能维持 30 分钟至 90 分钟。此外也有许多研究组利用不同方法实现了细胞膜成像, 但成像时间仍然有待突破。因此, 为了更好地对细胞膜的结构和功能进行研究, 开发一种长时间细胞膜成像试剂就显得尤为重要。

为了实现长时间细胞膜成像的目的, 本文将利用壳聚糖高分子侧链修饰的胆固醇进行多位点锚定, 形成一层高分子成像基底, 再利用生物素与亲和素的特异性结合引入荧光分子, 可以实现长达 8 小时的高质量细胞膜成像。该试剂生物相容性好, 成像效果优良, 且能长时间保持在细胞膜上而不被内吞, 可作为新一类细胞膜成像试剂。

2 实验部分

2.1 实验材料

(+)生物素-N-琥珀酰亚胺基酯 (NHS-Biotin) 于百灵威公司购买, 亲和素 (avidin) 于上海生工公司购买。

2.2 乙二醇壳聚糖-10% 聚乙二醇胆固醇-10% 生物素的合成

首先以乙二醇壳聚糖高分子 (glycol chitosan)、N-羟基琥珀酰亚胺-聚乙二醇 2000-胆固醇 (NHS-PEG2000-cholesterol) 和 (+)生物素-N-琥珀酰亚胺基酯 (NHS-Biotin) 为原料, 合成胆固醇锚定单元占壳聚糖重复单元数的百分比为 10%, 生物素分子占壳聚糖重复单元数的百分比为 10% 的物质, 即目标产物。分别称取 16 mg N-羟基琥珀酰亚胺-聚乙二醇 2000-胆固醇、15.2 mg 乙二醇壳聚糖高分子 (聚合度: 约 319; 平均分子量: 67000) 以及 2.5 mg (+)生物素-N-琥珀酰亚胺基酯。将三者分别溶于 PBS 缓冲液 (pH 7.4, 50 mL), 迅速混合均匀后, 在摇床中室温下反应过夜。反应结束后用截留分子量为 10k 的透析袋透析 3 天进行纯化, 最后在冻干机中冻干制成乙二醇壳聚糖-10% 聚乙二醇胆固醇-10% 生物素。

2.3 亲和素-异硫氰酸荧光素 (FITC) 的合成

首先将 5 mg 的亲合素溶于 2.5 mL, pH = 9.5 的碳酸钠/碳酸氢钠缓冲溶液。称取一定质量的 FITC 并溶于二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 浓度 2 mg/mL。向亲合素溶液中加入 250 μ L 的 FITC 溶液, 混合均匀后, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中反应过夜。反应结束后, 用截留分子量 2k 的透析袋透析三天除去未反应的 FITC 进行纯化。最后在冻干机中冷冻干燥制得亲合素-异硫氰酸荧光素。

2.4 成像试剂的表征

动态光散射 (DLS) 数据用 Malven Nano ZS 电位粒度分析仪测量得到。

2.5 细胞毒性实验

为了评价乙二醇壳聚糖-10% 聚乙二醇胆固醇-10% 生物素对体外细胞产生的毒性, 选择了肺癌细胞 A549 进行细胞毒性试验。A549 用 DMEM 完全培养基培养, 其中混有 10% 的胎牛血清、100 U 青霉素和 100 mg/mL 链霉素, 培养在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中。为了研究乙二醇壳聚糖-10% 聚乙二醇胆固醇-10% 生物素对细胞的毒性, 将 A549 细胞接种在 96 孔板中过夜。第二天, A549 和不同浓度的乙二醇壳聚糖-10% 聚乙二醇胆固醇-10% 生物素共同在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中孵育 2 天。接着, 在每个孔中加入 10 μ L 的 MTT 溶液。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中孵育 4 小时后, 向每个孔中加入 150 μ L DMSO 并用 Multiskan FC 酶标仪 (Thermo) 测量 570 nm 处的吸收值。药物对细胞生长的作用用以下公式计算: 细胞活力 (%) = (加入药物的平均吸收值/对照组的平均吸收值) \times 100%。

2.6 共聚焦成像实验

所述成像试剂组分 A (乙二醇壳聚糖-10% 聚乙二醇胆固醇-10% 生物素) 与组分 B (亲合素-FITC) 分别溶于细胞培养用 PBS 制成 1 mg/mL 的储存液, 并用 0.22 μ m 的无菌过滤头进行过滤除去细菌制得工作液。A549 肺癌细胞在共聚焦培养板上培养 12 小时后, 先吸去原有培养基, PBS 清洗两次, 再加入 2 mL 新鲜 DMEM 完全培养基 (DMEM 不完全培养基 + 10% 胎牛血清 + 1% 青霉素-链霉素双抗)。先加入组分 A 200 μ L 并放回二氧化碳培养箱孵育 30 分钟, 随后吸出培养板中液体并 PBS 清洗 1 次, 换入 DMEM 完全培养基。再加入 400 μ L 组分 B 于培养箱中孵育 10 分钟, 染色结束后 PBS 清洗 3 次, 置于共聚焦显微镜下观察。

3 结果与讨论

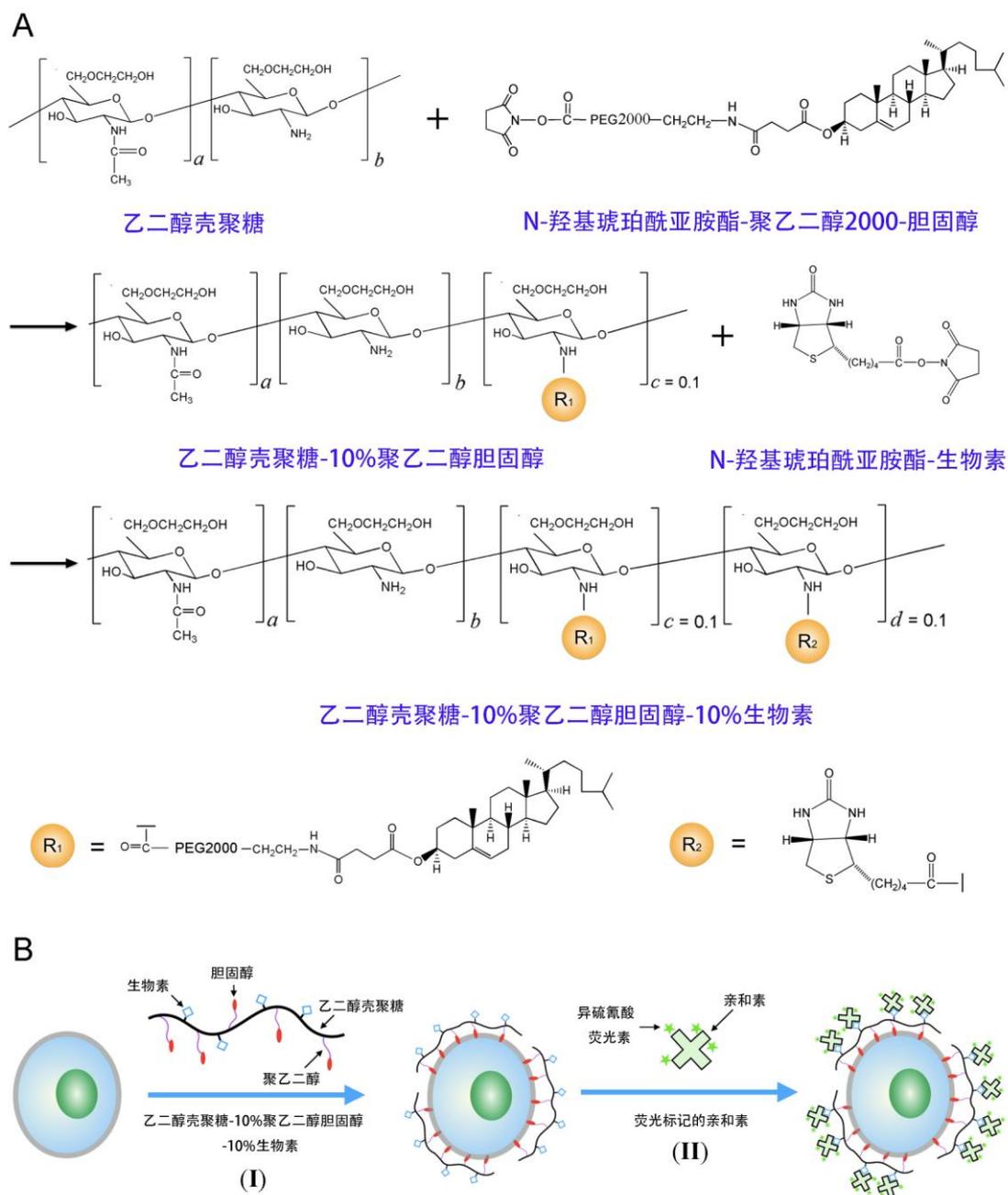


图 3-1 乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素的合成路线图 (A) 以及双重成像策略示意图 (B)

图 3-1 (A) 是第一重锚定修饰试剂的合成路线。图 B 展示了这种基于多位点锚定修饰的双重成像策略：第一重分子为乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素，利用胆固醇与细胞膜中磷脂的相似相容将高分子引入到细胞膜表面，从而将生物素暴露出来；接着，再将接枝有 FITC 的亲和素分子与细胞共孵育，通过生物素与亲和素之间的强相互作用使荧光分子附着在细胞表面，从而实现细胞膜成像。

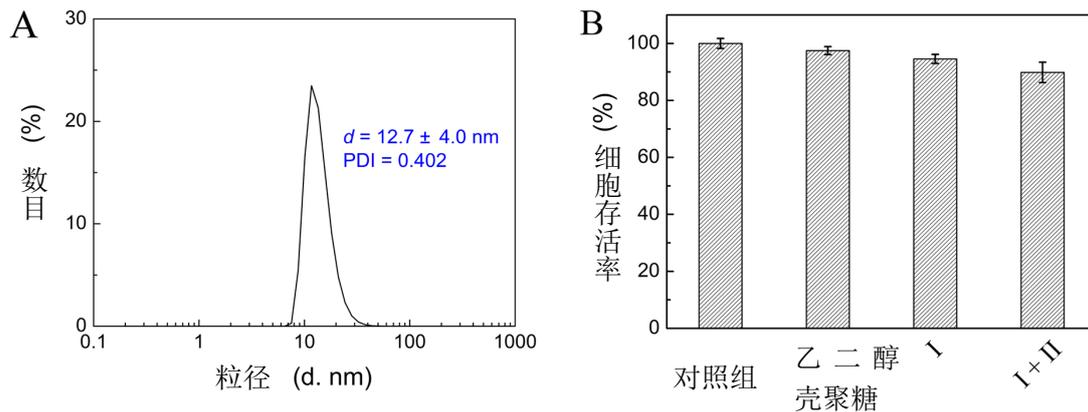


图 3-2 乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素的动态光散射表征结果 (A) 以及乙二醇壳聚糖和成像试剂对细胞的毒性评价结果 (B)。其中 I 代表乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素, II 代表亲和素-FITC。

图 3-2 (A) 显示了动态光散射的结果, 乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素的水溶力学直径为 13 nm 左右, 多分散指数 (PDI) 小于 1, 表明该高分子的粒径具有良好的均一性。由于乙二醇壳聚糖高分子的水溶力学直径约为 40 nm 左右, 证明该试剂形成了比较致密的结构。这主要是由于疏水的胆固醇分子相互聚集形成内核, 外部高分子将其包裹形成外壳。

良好的细胞膜染色试剂不对细胞造成毒害作用或影响其正常生命活动, 因此我们紧接着评价了该成像试剂的体外细胞毒性试验。我们的多位点锚定试剂是基于乙二醇壳聚糖高分子的, 而图 1-2 (B) 显示这个高分子在浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时几乎没有任何细胞毒性。MTT 结果也显示单独的乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 以及与亲和素-FITC (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 联用时的细胞毒性均非常低, 证明了该策略具有在长时间细胞膜成像方面的潜力。

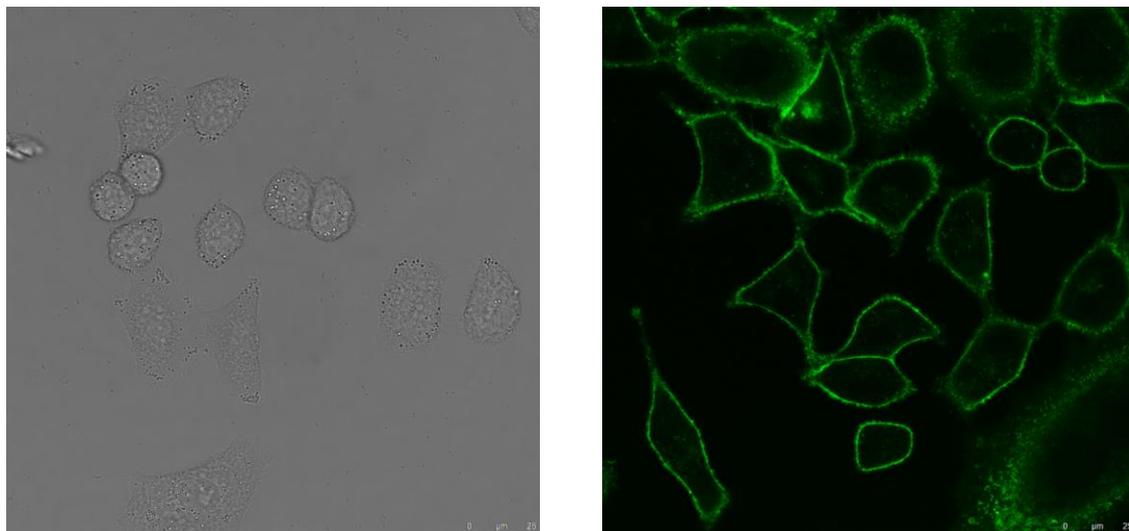


图 3-3 明光场和 FITC 荧光场下的 A549 细胞成像图

为了验证细胞膜成像效果, A549 肺癌细胞先后与 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 glycol 乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 亲和素-FITC 共孵育。实验结果显示细胞膜被非常均一地被绿色荧光分子标记, 并且细胞边界和细胞膜上的基团可以清楚地辨别。此外, 可以注意到仅在在细胞膜上出现了荧光信号, 这主要是因为生物素与亲和素之间具有超强的特异性识别。即使只有 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 亲和素-FITC 也可以高效特异性结合到细胞膜上,

因此这种成像策略可以实现免清洗。相反，单独的亲和素-FITC 则几乎不具有细胞膜成像能力。

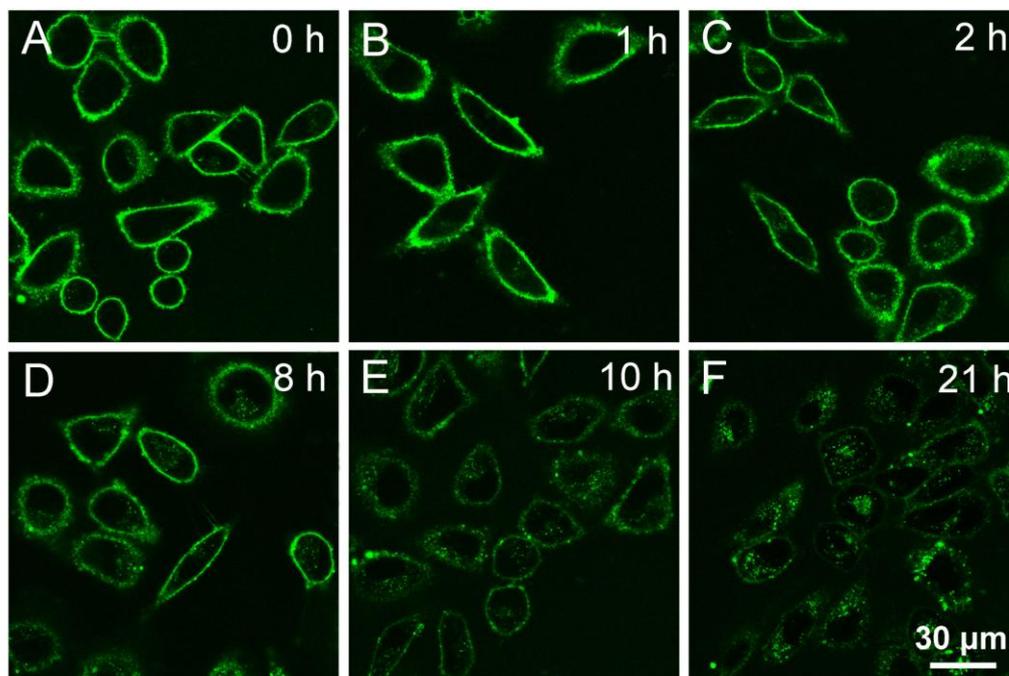


图 3-4 A549 细胞经过双重成像试剂染色处理 0、1、2、8、10 以及 21 小时后的共聚焦荧光图

为了探究这种基于双重包覆的染色试剂在细胞膜表面的滞留时间，先将 A549 细胞与 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素 孵育 30 分钟，经 PBS 缓冲液清洗后再与 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 亲和素-FITC 孵育 10 分钟，然后每次经过一定的时间段在共聚焦显微镜下观察染色情况。实验结果显示细胞膜上的荧光信号随时间推移在逐渐减弱，但在染色 8 小时后细胞膜边界仍清晰可见。即使在 10 小时后细胞膜上还有可辨别的荧光分子。当染色 21 小时后，细胞表面荧光非常微弱，并伴随有大量的试剂被内吞进入细胞质。因此，这种双重成像试剂可以实现至少 8 小时的高质量细胞膜染色。

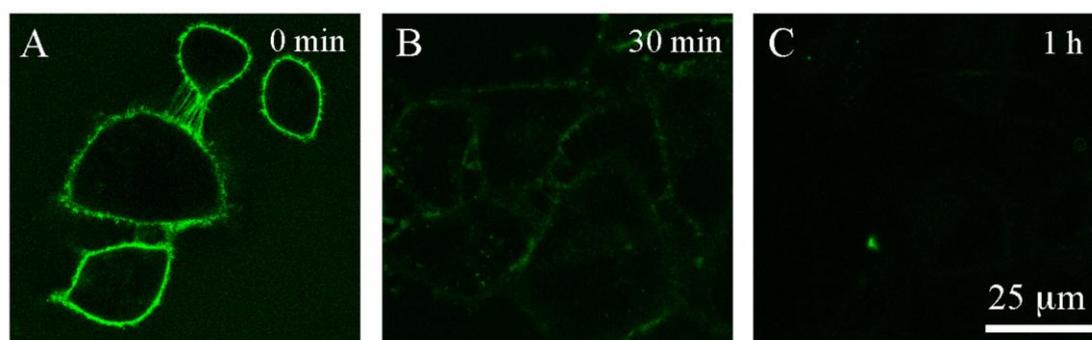


图 3-5 A549 细胞经过乙二醇壳聚糖-10%胆固醇-2%FITC 染色 0、30 分钟以及 1 小时后的共聚焦荧光图

相比于仅有一重修饰的试剂染料，双重修饰的成像策略不仅继承了多位点锚定试剂不易被细胞内吞的优点，并且采用荧光信号放大的方法延长了细胞膜成像时间。该策略巧妙利用生物素与亲和素的特异性结合将大量的荧光分子包裹在细胞表面，即使有分子不断脱落进入游离溶液中，其荧光信号衰减速度也可以被极大减缓。一方面，10%的生物素接枝率可以使

得有接近等量的亲和素分子结合至细胞表面；另一方面，每个亲和素分子上又可以接枝数十个 FITC 荧光分子，这样一来细胞膜上的荧光信号就被放大了上百倍。

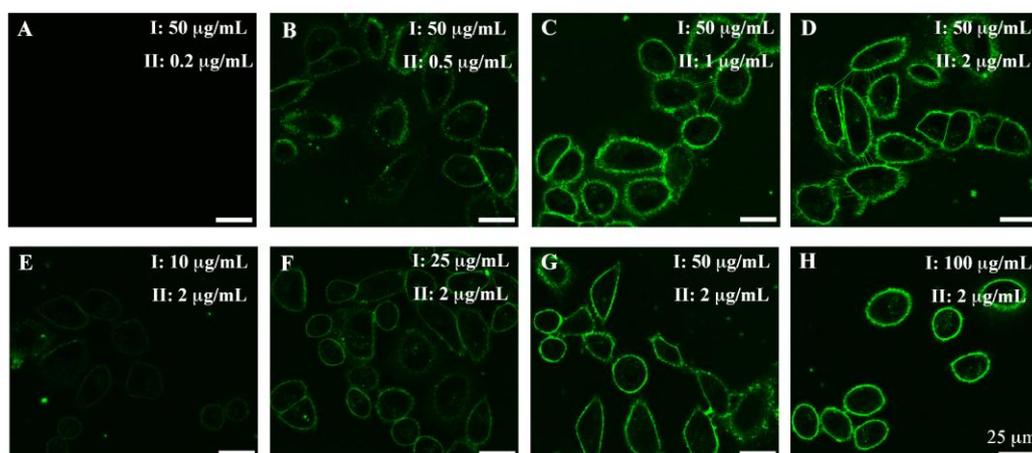


图 3-6 不同浓度的乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素与亲和素-FITC 对 A549 细胞染色的共聚焦显微镜图

在此基础上，我们还深入探究了第一重与第二重染色浓度对成像效果的影响。首先，如果保持第一重修饰试剂 乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素浓度为 50 µg/mL，而第二重修饰试剂浓度由 0.2 到 2 µg/mL 逐渐增加，可以观察到细胞表面的荧光强度总体上是呈上升趋势。并且亲和素-FITC 浓度小于 0.5 µg/mL 时几乎不具有成像效果，这是第二重染料能够成像的临界浓度。而当浓度为 1 µg/mL 和 2 µg/mL 时，染色效果没有较大区别，我们猜测可能是由于细胞表面结合的亲和素-FITC 已趋于饱和，即没有多余的生物素分子与外环境中的亲和素结合，而是维持在一个动态平衡的过程中。

如果保持第二重试剂浓度为 2 µg/mL，第一重分子浓度依次由 10、25、50 和 100 µg/mL 上升，其染色效果也是不断改善。可以观察到，细胞膜上的荧光强度随浓度的增加而上升，细胞边界也更加清晰。这是由于第一重浓度越大，即有更多带有生物素分子的多位点锚定试剂结合在细胞表面，因此能够将更多的带有荧光基团的亲和素分子从游离环境中“拽”至细胞膜上。随着时间推移，即使有部分带有荧光基团的亲和素分子从细胞膜上脱离，也能够保证细胞膜上有足够强度的荧光，从而依然保持了高质量的细胞膜成像。由此我们可以确定，50 µg/mL 的乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素以及 1 µg/mL 的亲和素-FITC 即能实现优质的细胞膜成像效果。

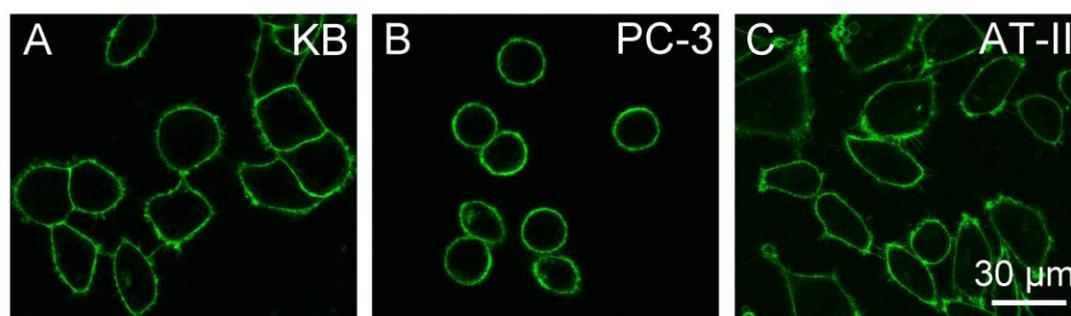


图 3-7 KB (A)、PC-3 (B) 以及 AT-II (C) 细胞的共聚焦成像图

为了证实该策略对不同细胞均有较好的染色效果，我们除了对 A549 肺癌细胞进行试验外还对人口腔表皮样癌细胞 (KB)、人前列腺癌细胞 (PC-3) 和肺泡表皮 II 型细胞 (AT-II) 进行了成像实验。图 3-7 显示的是实验结果，可以观察到这种试剂对于这三种细胞均有非常

好的细胞膜成像效果，边界清晰且几乎没有内吞现象。这证明双重修饰的成像策略是具有一定普适性的，可以实现包括正常细胞跟癌细胞在内的不同种类的细胞膜成像。

结 论

在本文中，我们开发了一种基于两步协同修饰的标记策略并用于细胞膜长时间成像的染色试剂。利用多位点锚定方案，乙二醇壳聚糖-10%聚乙二醇胆固醇-10%生物素首先被锚定在细胞膜上，使得生物素基团暴露在细胞表面，随后通过生物素与亲和素之间紧密的特异性识别将亲和素-FITC 连接到第一重高分子上。该试剂能够实现长达 8 小时的高质量细胞膜成像，且无明显内吞现象发生。此外，该试剂具有良好的生物相容性且能够使不同种类的细胞膜成像。我们相信这种两重修饰的标记策略在研究与细胞膜相关的生物学行为方面将有很大的应用前景，并为细胞膜表面修饰领域提供了一种新思路。

致 谢

本论文是在我的导师吴富根教授的亲切关怀和悉心指导下完成的。他严肃的科学态度，严谨的治学精神，精益求精的工作作风，深深地感染和激励着我。在论文的写作过程中遇到了无数的困难和障碍，吴老师对我进行了无私的指导和帮助，不厌其烦的帮助进行论文的修改和完善。在此向吴老师致以诚挚的谢意和崇高的敬意。我还要感谢贾浩然师兄的指导，正是由于您们的帮助和支持，我才能克服一个一个的困难和疑惑，直至本文的顺利完成。

本文引用了数位学者的研究文献，如果没有各位学者研究成果的帮助与启发，我将很难完成本篇论文的写作。

由于我的学术水平有限，所写论文难免有不足之处，恳请各位导师给予批评和指正！

A kind of fluorescent reagent based on a two-step synergistic modification

Shi Tianai

Abstract: In this work, we designed and synthesized s that can achieve long time plasma membrane imaging with high quality. With the guidance of my tutor and fellow student, I consulted references and synthesized the reagent, characterized their features and evaluated imaging results and cytotoxicity. These results manifest that this strategy based on a two-step synergistic modification can realize long time fluorescent imaging for plasma membranes with negligible cellular uptake or detachment of our reagents. Besides, it can effectuate the imaging of different kinds of cells, including normal cells and cancer cells. Another highlight of these reagents is good biocompatibility with little cytotoxicity. This reagent is vital to investigating biological behaviors of cell membranes, so it's highly possible to have a bright application prospect.

Key words: Membrane; two-step synergistic modification; long time imaging

参考文献

- [1] Yun S W, Leong C, Bi X, et al. A fluorescent probe for imaging symmetric and asymmetric cell division in neurosphere formation[J]. Chem Comm, 2014, 50(56), 7492–7494.
- [2] Asanuma D, Takaoka Y, Namiki S, et al. Acidic - pH - Activatable Fluorescence Probes for Visualizing Exocytosis Dynamics[J]. Angew Chem Int Ed, 2014, 126(24), 6199–6203.
- [3] Sunayama H, Ooya T, Takeuchi T. Fluorescent protein-imprinted polymers capable of signal

transduction of specific binding events prepared by a site-directed two-step post-imprinting modification[J]. Chem Commun, 2014, 50(11), 1347–1349.

[4] Zhu C, Yang Q, Liu L, et al. A potent fluorescent probe for the detection of cell apoptosis[J]. Chem Commun, 2011, 47(19), 5524–5526.

3D 打印在汞离子检测芯片及其制备中的应用

孙佳歆

(金陵中学, 南京)

摘要: 本文所述了3D打印在汞离子检测芯片制备中的应用, 该检测芯片包括样品槽、汞离子响应水凝胶制微阀、滤网、发热槽, 所述样品槽底部设置有微孔, 所述微孔的下端设置有滤网, 所述滤网的上方微孔处覆盖有汞离子响应水凝胶以形成所述的汞离子响应水凝胶制微阀, 所述微孔的下端联通至所述发热槽的一端, 所述发热槽内填充有多孔毛细材料, 所述发热槽的另一端的多孔毛细材料内填充有NaOH粉末。本发明基于发热方法解决了传统检测方法的操作繁琐、成本高等缺点, 应用于检测具有灵敏度高、操作简单、成本低的特点。基底材质可为塑料、玻璃等, 基底的制作可使用3D打印机、光刻等

关键词: 汞离子检测芯片、 发热方法 、 基底制作 、 3D 打印

1、 绪论

背景技术

目前, 体外(临床)诊断的途径主要有: 一是利用医院配套的分析化验室大型仪器设备, 二是通过掌上小型简易设备实现现场快速(POCT)分析诊断, 前者具有全自动、高精确性、高灵敏性但是随着人口老龄化日益加剧, 单纯依靠医院化验中心, 会大大提高健康成本, 后者具有简单、快速、低成本的特点, 可实现家庭化的分析诊断。

目前, POCT 分析检测主要是光学、电化学等方法, 即将待测物通过物理化学等信号转换与放大方法, 变成光或者电信号, 再通过仪器进行检测。因此, 无论光学或者电化学方法, 都需要复杂的定制仪器来实现定量检测, 增加现场检测的成本和操作复杂程度。因而需要发展一种新的操作简单、成本低的检测方法。

红外额温计/耳温计是一种非接触式的便携式温度检测装置, 由于成本低, 使用简单快速, 不含有有害的汞等优点, 已经广泛应用于家庭、医院、机场等场所。如采用红外额温计/耳温计作为生化检测的检测器, 将大大降低 POCT 的成本, 使该技术更好地走进千家万户。

3D 打印(3Dprinting)也称为“增材制造”, 它是新兴的一种快速成型技术。与传统的减材制造工艺不同, 3D 打印是以数据设计文件为基础, 将材料逐层沉积或黏合以构造成三维物体的技术。

以 3DSystems 和 DTM 公司为代表的一批美国中小科技公司在 20 世纪 80 年代末-90 年代初相继研发出立体光固成型(SLA)、选择性激光烧结(SLS)和熔丝沉积造型(FDM)等主流技术路线, 经过 20 多年的沉淀和不断完善已经日臻成熟。

3D 打印与传统制造业的最大区别在于产品成型的过程上。在传统的制造业, 整个制造流程一般需要经过开模具、铸造或锻造、切割、部件组装等过程成型。3D 打印则免去了复杂的过程, 无需模具, 一次成型。因此, 3D 打印可以克服一些传统制造上无法达成的设计, 制作出更复杂的结构

2、 检测原理

一种基于温度测量的生化检测方法, 步骤为: 将遇水溶解产热的化合物涂布于反应池的基底上, 使用能够与特定待测物反应并产生相应的收缩膨胀的智能水凝胶作为微阀, 水凝胶的收缩膨胀影响液体流速, 从而控制化合物的溶解速度并产生不同热量, 通过检测温度信号来定量检测生化指标的目的。使用常用的家用红外额温计/耳温计即可完成热信号的采集, 大大降低检测所需的仪器成本。制作的发热芯片具有快速响应、成本低、可重复利用、样

品消耗量小等特点，可用于低成本无创的生化现场检测。

2.1 一种基于热信号的检测方法的步骤

步骤一、制作带有凹槽和通道的发热端基底；以及带有凹槽和孔洞的点样端基底。

步骤二、滴加纳米粒子胶体溶液与发热端通道中，溶剂挥发后形成多孔的毛细通道。

步骤三、将遇水溶解的化合物研磨成粉末均匀刮涂于发热端凹槽中。

步骤四、将适配子和水凝胶聚合于点样端的孔洞中，样品滴加于点样端凹槽与水凝胶反应使水凝胶收缩孔洞增加后液体流过孔洞通过通道流入发热端凹槽使化合物溶解产热。

步骤五、使用红外额温计/耳温计检测发热端液体流过前后温度变化，进而计算样品中特定组分的浓度。

所述的基底，其特征在于：基底材质可为塑料、玻璃等，基底的制作可使用 3D 打印机、光刻等。

3. 技术方案

一种基于热信号的检测方法，其步骤为：

步骤一、制作带有凹槽和通道的发热端基底；以及带有凹槽和孔洞的点样端基底。

步骤二、滴加纳米粒子胶体溶液与发热端通道中，溶剂挥发后形成多孔的毛细通道。

步骤三、将遇水溶解的化合物研磨成粉末均匀刮涂于发热端凹槽中。

步骤四、将适配子和水凝胶聚合于点样端的孔洞中，样品滴加于点样端凹槽与水凝胶反应使水凝胶收缩孔洞增加后液体流过孔洞通过通道流入发热端凹槽使化合物溶解产热。

步骤五、使用额温计检测发热端液体流过前后温度变化，进而计算样品中特定组分的浓度。

所述的步骤一的基底材质可为塑料、玻璃等，基底的制作可使用 3D 打印机、光刻等。

所述的步骤二多孔毛细通道，其纳米粒子可为二氧化硅微球、聚苯乙烯微球等，粒径介于 200nm-1000nm 最适。

所述的步骤二化合物为遇水溶解产热较为明显的化合物如氢氧化钠、氧化钙等。

本发明的有益效果是：本发明提出了一种基于热信号的检测方法，使用额温计直接测量温度变化。

本发明基于发热方法解决了传统检测方法的操作繁琐、成本高等缺点，应用于检测具有灵敏度高、操作简单、成本低的特点。

附图

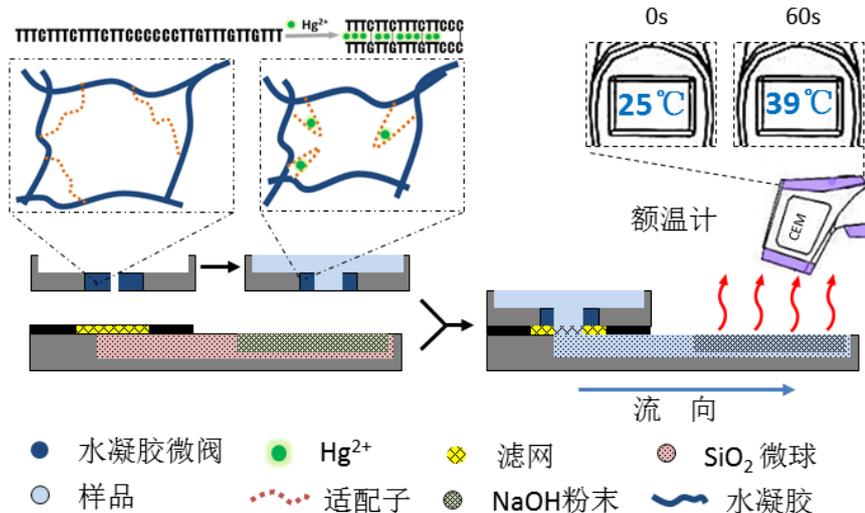


图 1 为本发明的发热芯片示意图

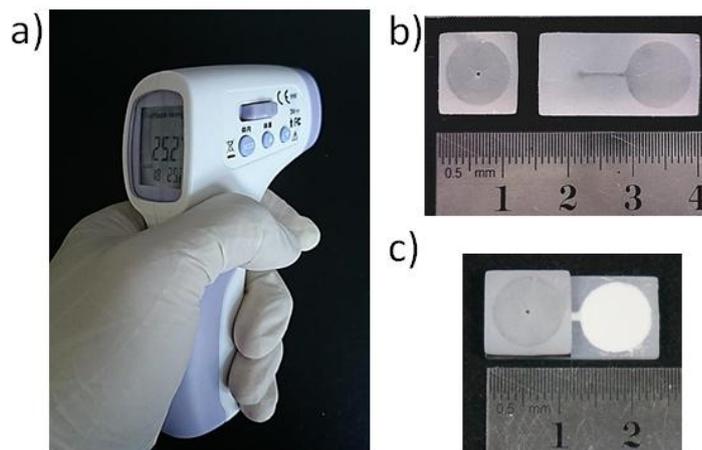


图 2 a)为本发明检测所用额温计实物图； b)为芯片基底实物图； c)为完整芯片实物图

4. 3D 打印技术在发明中的的应用

使用 Formlabs form1 型 3D 打印机制作带有凹槽和通道的发热端基底，厚 2mm，通道及样品池深度 1mm，样品池直径 10mm；以及带有凹槽和孔洞的点样端基底，厚度 2mm，样品池深度 1mm，直径 10mm，中间空洞深度 1mm，直径 0.5mm。

制图软件：solidworks2013

对于要求具有精确的内部凹陷或互锁部分的形状设计，3D 打印机是首选加工设备，它可以将这样的设计在实体世界中实现。

结 论

1.基于温度测量的生化检测方法，步骤为：将遇水溶解产热的化合物涂布于反应池的基底上，使用对刺激（即待测物）响应的智能水凝胶作为微阀，通过水凝胶与待测物反应产生的收缩膨胀影响液体流速，从而控制产热化合物的溶解速度并产生不同热量，通过检测温度的变化来定量检测生化指标的目的。

2.制作的发热芯片具有快速响应、成本低、可重复利用、样品消耗量小等特点，使用常用的家用红外额温计或耳温计即可完成生化检测，大大降低检测所需的仪器成本。

致 谢

在本次论文设计过程中，刘宏老师对该论文从选题，构思到最后定稿的各个环节给予细心指引与教导,使我得以最终完成毕业论文设计。在学习中,老师严谨的治学态度、丰富渊博的知识深深打动了。在此，谨向老师致以衷心的感谢和崇高的敬意！最后，我要向百忙之中抽时间对本文进行审阅，评议和参与本人论文答辩的各位老师表示感谢。

Mercury ion detection chip and its preparation and application method

Sun Jiaxin

Abstract: This paper describes the application of 3D printing in the preparation of mercury ion detection chip, which includes a sample cell, a mercury ion responsive hydrogel, a filter and a heating groove. The bottom of the sample is provided with a filter, and the lower end of the micro hole is provided with a mercury ion responsive hydrogel to form the end of the heating groove. The method solves the problem of high sensitivity, high sensitivity, simple operation and low cost,

and is applied to the detection of high sensitivity, simple operation and low cost.

Base material can be plastic, glass, etc., substrate production can use 3D printer, lithography, etc.

Key words: Mercury ion detection chip, heating method, substrate production, 3D printing

参考文献:

[1] 刘宏、高兵兵、顾忠泽 汞离子检测芯片及其制备、应用方法 中国专利 20150206

CdTe 量子点荧光纳米探针的制备及其细胞成像应用研究

孙翎瑄

(金陵中学, 南京)

摘要: 量子点材料在生物标记、细胞成像、生物分子探测等领域中具有重要的应用价值。本文基于胶体法制备了水溶性量子点 CdTe, 对其结构和荧光特性进行了研究, 在实验上获得了具有绿色和红色的荧光探针。接着, 借助于二氧化硅纳米粒子和 PEI 聚合物, 我们制备了二氧化硅@PEI@量子点的荧光纳米粒子, 并对该纳米粒子的结构和荧光特性进行了表征。最后, 以 Hela 细胞作为模型, 研究了该量子点在活细胞成像中的应用。实验结果表明, CdTe 量子点具有很好的荧光特性, 同时易于调节荧光颜色, 可用于活细胞成像中。

关键词: 量子点; 荧光纳米探针; 细胞成像

1、绪论

1.1 选题背景

1.1.1 量子点是一种理想的荧光探针

量子点具有优良的光谱性能, 随着研究的深入与量子点表面修饰技术的日益成熟, 人们对其在生物医学研究中的作用有了更深刻的认识。其中以水溶性的量子点为突出, 在生物医学研究领域中的应用有着非常广阔的前景。

(1) 量子点的激发光谱宽且连续分布, 而发射光谱窄而对称

量子点具有宽的激发谱和窄的发射谱。使用同一激发光源就可实现对不同粒径的量子点进行同步检测, 因而可用于多色标记, 极大地促进了荧光标记在中的应用。此外, 量子点具有窄而对称的荧光发射峰, 且无拖尾, 多色量子点同时使用时不容易出现光谱交叠。

(2) 颜色可调

量子点的发射光谱可以通过改变量子点的尺寸大小来控制。通过改变量子点的尺寸和它的化学组成可以使其发射光谱覆盖整个可见光区。以 CdTe 量子为例, 当它的粒径从 2.5nm 生长到 4.0nm 时, 它们的发射波长可以从 510nm 红移到 660nm

(3) 量子点光化学稳定性高

量子点的荧光强度比最常用的有机荧光材料“罗丹明 6G”高 20 倍, 它的稳定性更是“罗丹明 6G”的 100 倍以上。因此, 量子点可以对标记的物体进行长时间的观察, 这也为研究细胞中生物分子之间长期相互作用提供了有力的工具。

(4) 量子点的荧光寿命长

有机荧光染料的荧光寿命一般仅为几纳秒(这与很多生物样本的自发荧光衰减的时间相当)。而量子点的荧光寿命可持续数十纳秒 (20ns — 50ns), 这使得当光激发后, 大多数的自发荧光已经衰变, 而量子点荧光仍然存在, 此时即可得到无背景干扰的荧光信号。

1.1.2 量子点具有广泛的应用前景

(1) 光电器件方面

量子点激光器、量子点太阳能电池、量子点 LED、量子点电视

(2) 生命科学方面

生物标记、活体成像、生物分析检测、荧光编码

1.2 选题意义

由于近红外光对组织的穿透能力更强, 运用近红外量子点可以加深探针进入组织的深度, 并提高显像灵敏度。他们预测, 量子点可以通过与定位、治疗、显像试剂整合, 在癌症、心血管系统斑块、神经系统退行性病变等疾病的非侵入性成像、诊断及治疗中, 发挥重要作

用。在过去的 20 年间，量子点的研究从电子材料领域到生物医学应用，有了很大进步。近来研究应用量子点的实例包括甘氨酸受体在神经元中扩散的观察、手术中近红外量子点标显淋巴结的在体识别等。新一代量子点在细胞内单分子水平变化、高分辨率细胞成像、细胞转运或迁徙的长期在体观察、肿瘤定位及诊断等研究中，还有很大潜能。量子点不会取代已经高度发展的荧光技术，而是会在需要更好的发光稳定性、近红外显像或长时间单分子灵敏探测的研究中，成为经典技术的有效补充。无疑，科学研究者将会继续这方面的研究，并试图发现目前尚未预见到的应用方向。

2、基础操作部分

初步掌握制备纳米粒子的基础操作，成功制备金纳米粒子。



图 2.1

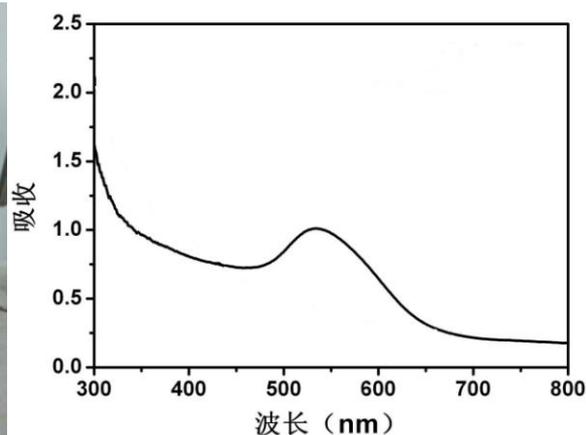


图 2.2

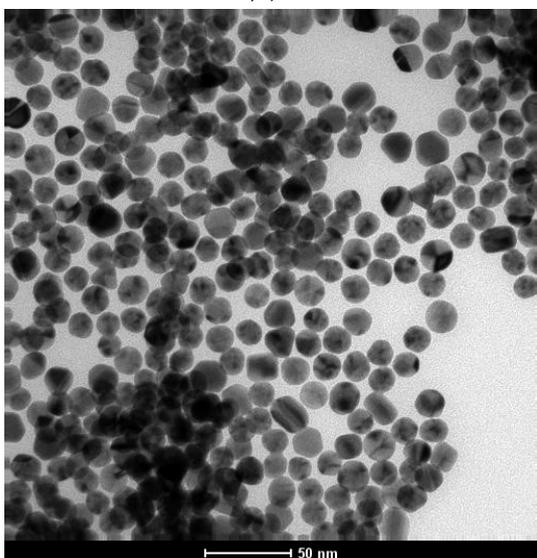


图 2.3

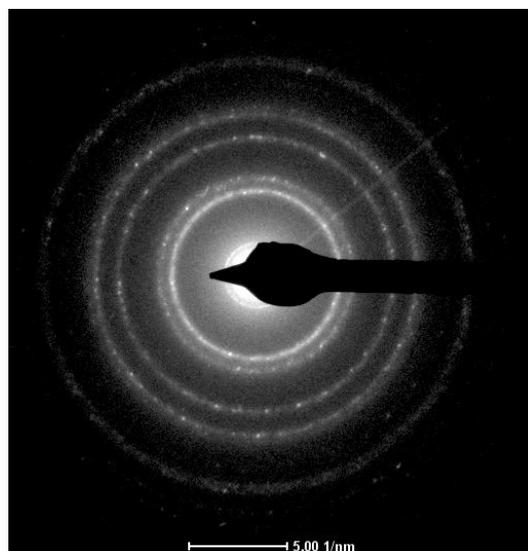


图 2.4

3、实验部分

3.1 实验试剂

碲粉购自 Sigma-Aldrich。硼氢化钠(NaBH_4)，聚乙烯亚胺 (PEI, MW 10 000)，正硅酸乙酯 (TEOS) 和无水乙醇购自 Alfa Aesar。二氯化铬 (CdCl_2)，巯基丙酸 (MPA) 购自阿拉丁试剂有限公司。氢氧化钠(NaOH)购自广东西陇化学试剂有限公司。所有试剂购买后直

接使用, 实验中均使用 18 MΩ/cm 去离子水.

3.2 实验仪器

实验中纳米粒子的消光光谱由 Shimadzu UV-3600PC 紫外-可见分光光度计测得; TEM 图片由 FEI Tecnai G²T20 透射电子显微镜在 200 kV 加速电压下测得; SERS 光谱由安道尔公司 Sharmrock 光谱仪装配 CCD 测得; 荧光光谱由 Edinburg FLS920 荧光光谱仪测得; 细胞成像由 Olympus FV 1000 共焦显微镜获得.

3.3 制备量子点

根据文献[4]报道的方法制备了 CdTe 量子点

3.3.1 制备碲氢化钠 (NaHTe) 溶液 (物质的量浓度为 0.667mol/L)

反应原理为: $4\text{NaBH}_4 + 2\text{Te} + 7\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NaHTe} + \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 14\text{H}_2\uparrow$

- (1) 称量 0.51g 碲粉 (Te), 0.34g 硼氢化钠 (NaBH₄), 倒入青霉素瓶中;
- (2) 将在冰箱中冰冻过的 6ml 去离子水注入青霉素瓶中, 插针头, 密封;
- (3) 冰水浴反应 8h, 不再有气泡时拔针头, 密封, 放入冰箱中备用.

3.3.2 制备碲化镉 (CdTe) 量子点

- (1) 将以下溶液依次加入反应瓶中: 4ml 二氯化镉溶液 (CdCl₂, 物质的量浓度为 0.1mol/L), 0.12ml 碲氢化钠溶液 (NaHTe, 物质的量浓度为 0.667mol/L), 84μl 巯基丙酸溶液 (MPA, 物质的量浓度为 11.5mol/L), 去离子水 191ml, 通过加入氢氧化钠溶液 (NaOH, 物质的量浓度为 1mol/L) 将体系的 pH 值调节到 9.0;
- (2) 将上述体系置于氮气环境中加热反应;
- (3) 控制反应时间的长短, 得到不同发光波长的碲化镉量子点;
- (4) 将制得的量子点置于锥形瓶中, 密封遮光保存、备用.



图 3.3.2.1



图 3.3.2.2

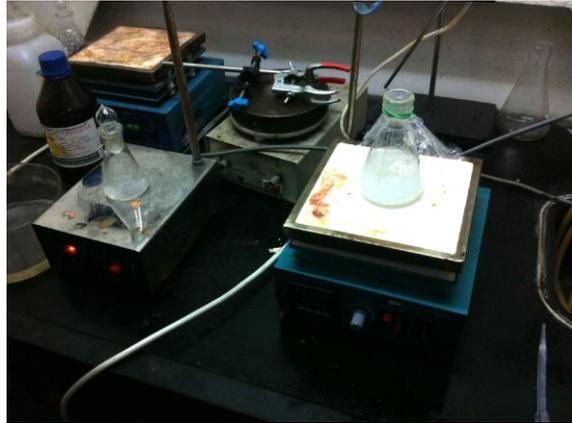


图 3.3.2.3

3.4 制备并修饰二氧化硅纳米粒子

- (1) 将 45ml 无水乙醇与 10ml 氨水溶液（浓度为 25%）混合均匀，记为溶液 I；
- (2) 将 1ml 正硅酸乙酯（TEOS，纯度为 98%）与 4ml 无水乙醇混合均匀，记为溶液 II；
- (3) 在快速搅拌的溶液 I 中，迅速倒入溶液 II，21℃ 反应 2h，制得二氧化硅纳米粒子；
- (4) 将制得的二氧化硅纳米粒子在酒精中清洗两次，去离子水中清洗三次，离心条件为：6000rpm，10min；
- (5) 取 2ml 清洗过的二氧化硅纳米粒子，加入 100ul 聚乙烯亚胺溶液（PEI，浓度为 10%），室温下搅拌 2h；
- (6) 将修饰过 PEI 的二氧化硅纳米粒子在去离子水中清洗三次，成功得到了表面带正电性的二氧化硅纳米粒子，密封保存备用。

3.5 制备荧光纳米探针

在上述 2ml 聚合物电解质（PEI）包裹的二氧化硅纳米粒子中加入 100ul 量子点水溶液，避光反应 2h 后离心清洗两次，所得沉淀分散至 2ml 去离子水中，即得荧光纳米探针。

3.5.1 制备荧光纳米探针示意图

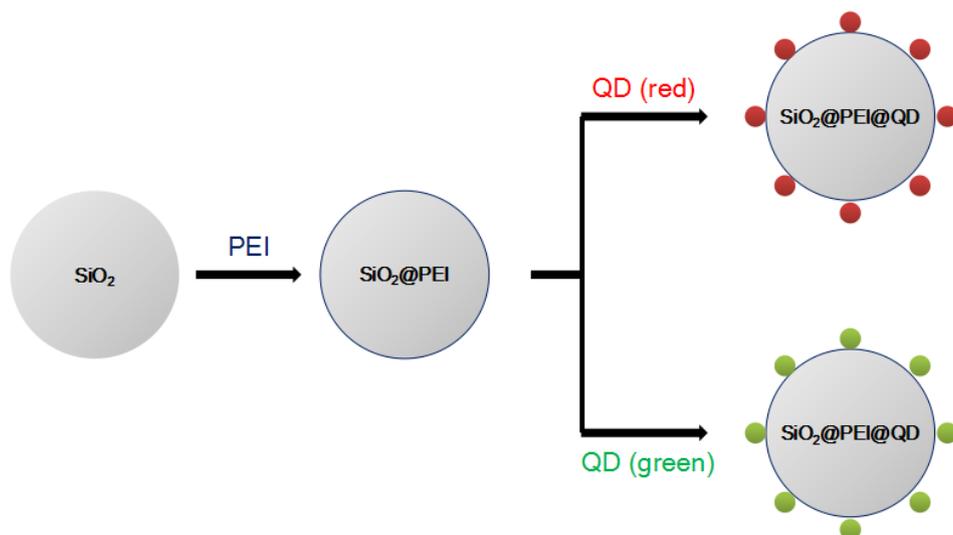


图 3.5.1

3.6 细胞实验

3.6.1 实验用细胞

子宫颈癌细胞(HeLa 细胞)购自中国科学院上海细胞库. 细胞培养基为 90% DMEM 高糖、10%新生牛血清以及 1%青链霉素混合液. 其中新生牛血清购自杭州四季青生物技术有限公司, DMEM 高糖培养基以及青链霉素混合液购自南京凯基生物技术有限公司. 细胞培养条件为 5%二氧化碳氛围, 培养温度恒定在 37℃.

3.6.2 细胞成像实验

将 HeLa 细胞接种于培养皿(Corning)培养 24 h 后加入荧光纳米探针溶液(体积比按培养基:探针溶液=5:1). 继续培养 2 h 后将培养皿中的培养液弃除, 用 PBS 缓冲液轻轻冲洗培养皿底部的 HeLa 细胞. 最后将培养皿置于共焦显微镜下进行成像.

4、实验结果与分析

4.1 二氧化硅纳米粒子的照片及荧光吸收、发射光谱

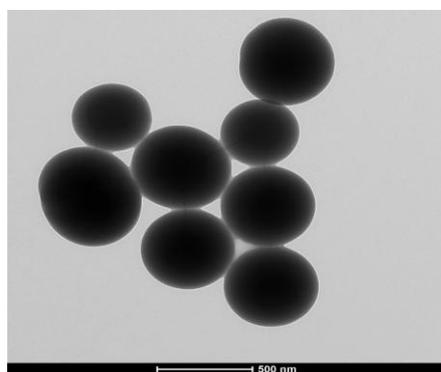


图 4.1.1

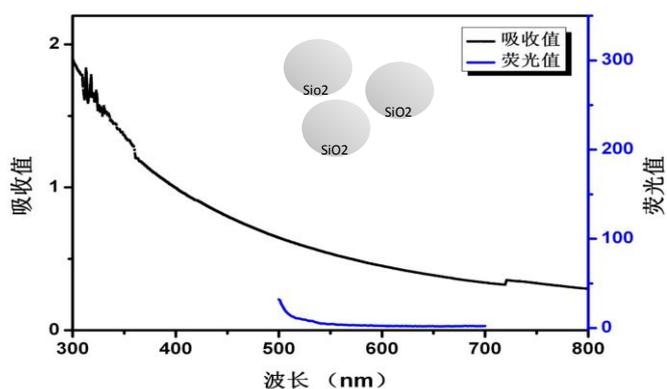


图 4.1.2

图 4.1.1: 二氧化硅纳米粒子的透射电子显微镜 (TEM) 照片, 球形, 粒径在 300nm 到 500nm 之间

图 4.1.2: 二氧化硅纳米粒子的吸收光谱和荧光发射光谱, 无吸收峰, 无荧光发射峰

4.2 量子点的发射峰

4.2.1 红色量子点

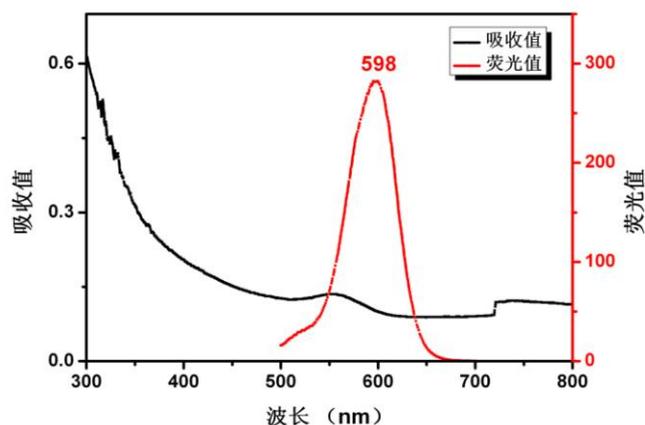
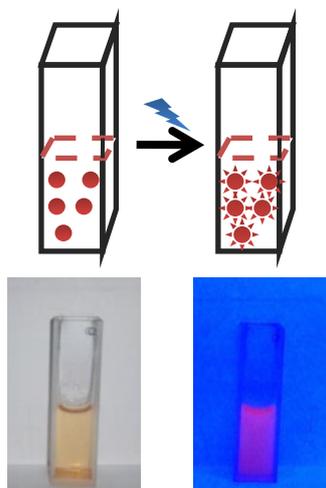


图 4.2.1: 红色量子点, 在 488nm 的激光激发下, 发出荧光, 发射峰为 598nm

4.2.2 绿色量子点

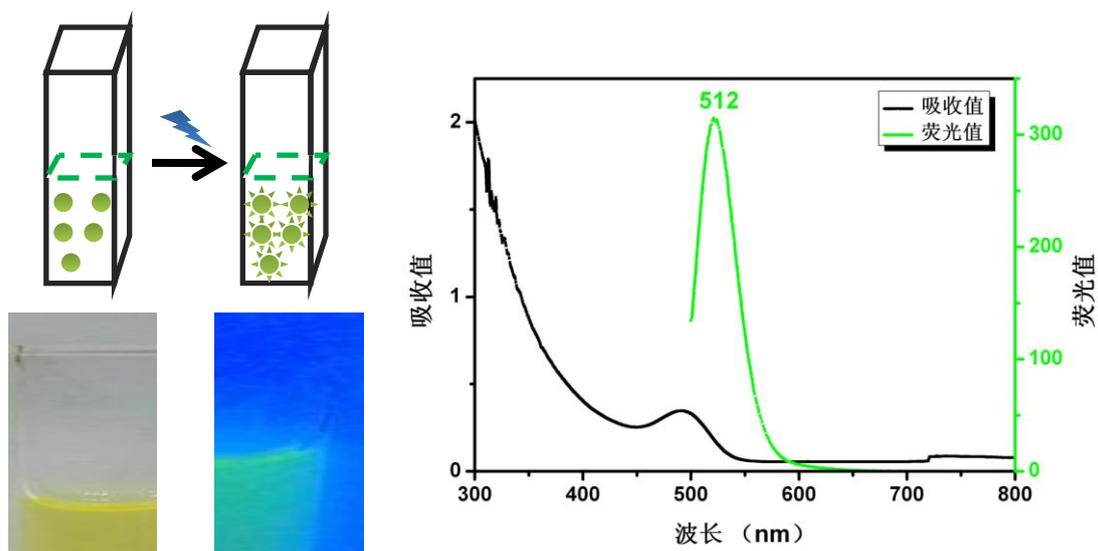


图 4.2.2: 绿色量子点, 在 488nm 的激光激发下, 发出荧光, 发射峰为 512nm

4.3 实验图像

4.3.1 荧光纳米探针与二氧化硅粒子的溶液

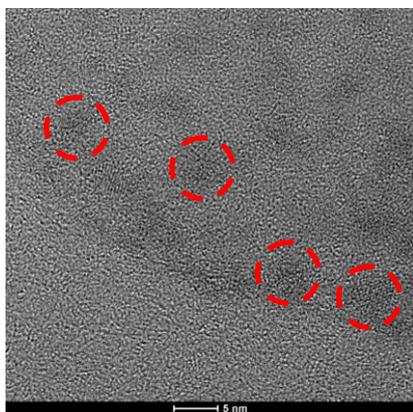


图 4.3.1.1

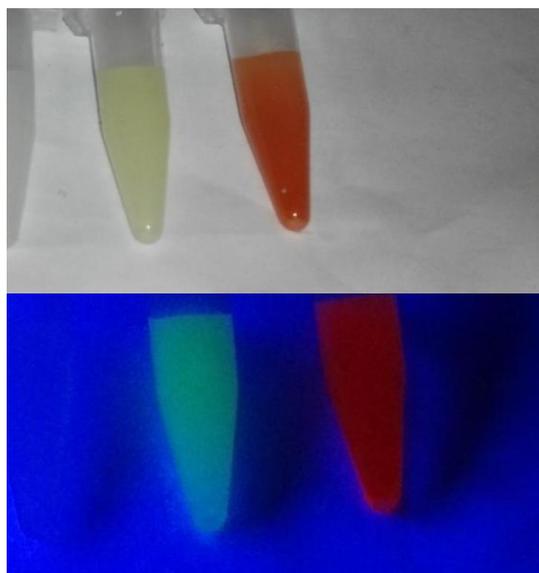


图 4.3.1.2

图 4.3.1.1: 荧光纳米探针的透射电子显微镜 (TEM) 照片, 红色圆圈圈出来的是吸附在二氧化硅粒子表面的量子点

图 4.3.1.2: 从左到右依次为二氧化硅纳米粒子溶液, 绿色荧光纳米探针溶液和红色荧光纳米探针溶液, 上图为普通光照下拍摄, 下图为紫外光下拍摄

4.3.2 表面电位的比较

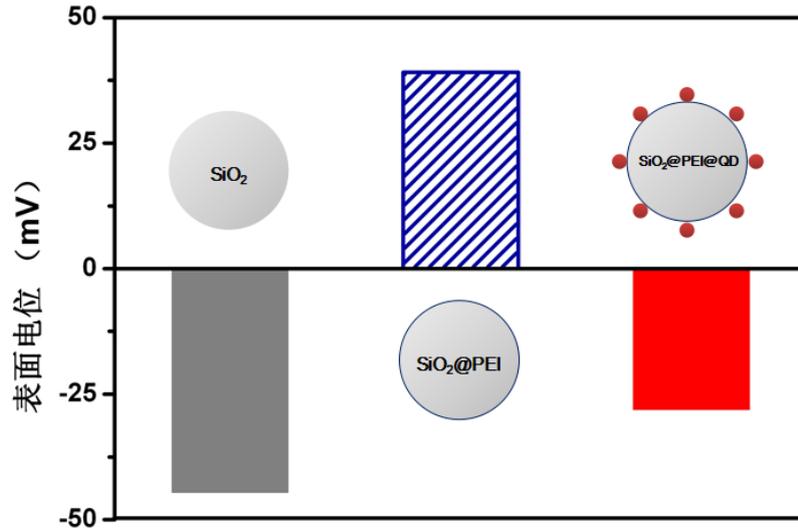


图 4.3.2.1

4.3.3 吸附量子点后的二氧化硅纳米粒子

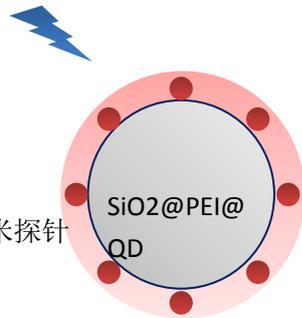


图 4.3.3.1
红色荧光纳米探针

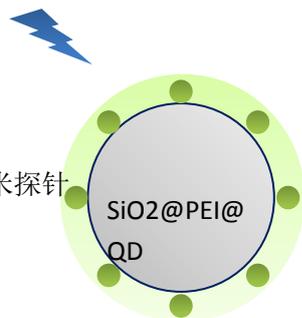
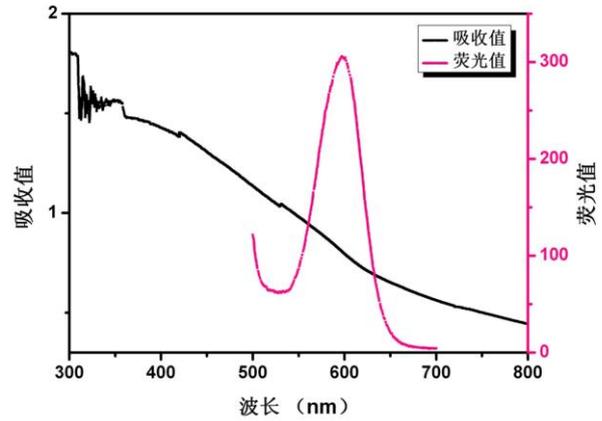
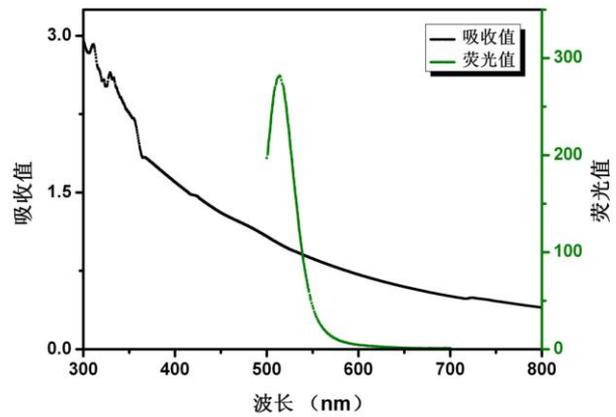


图 4.3.3.2
绿色荧光纳米探针



通过静电吸附将量子点连接到二氧化硅纳米粒子表面，荧光特性没有发生变化。

4.3.4 将荧光纳米探针用于细胞成像的示意图与实图

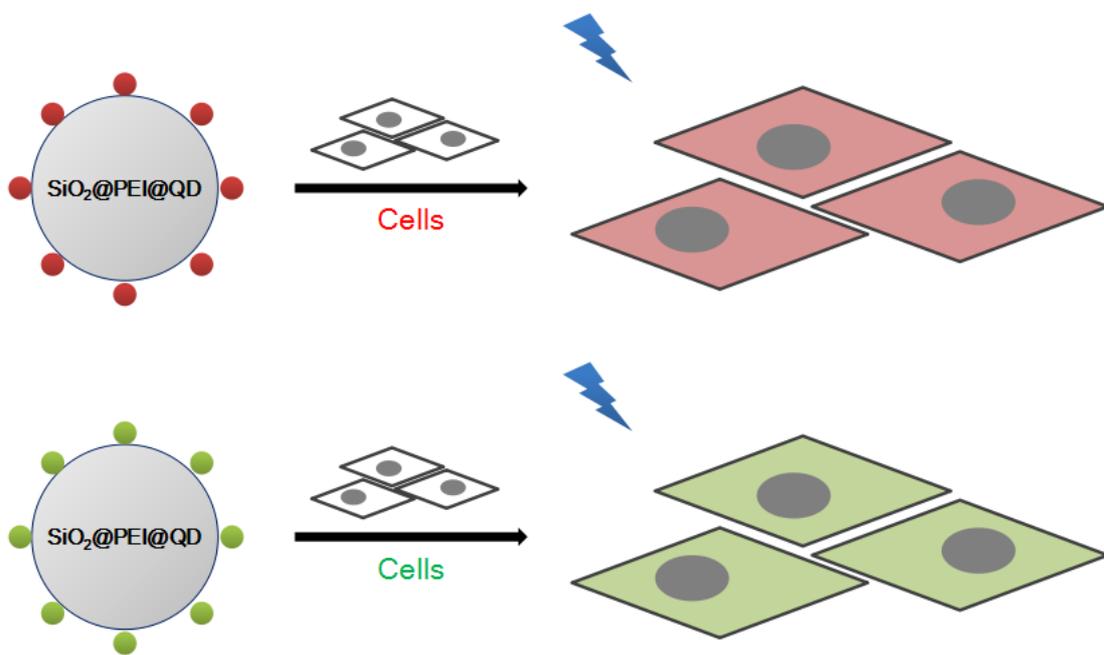


图 4.3.4.1 示意图

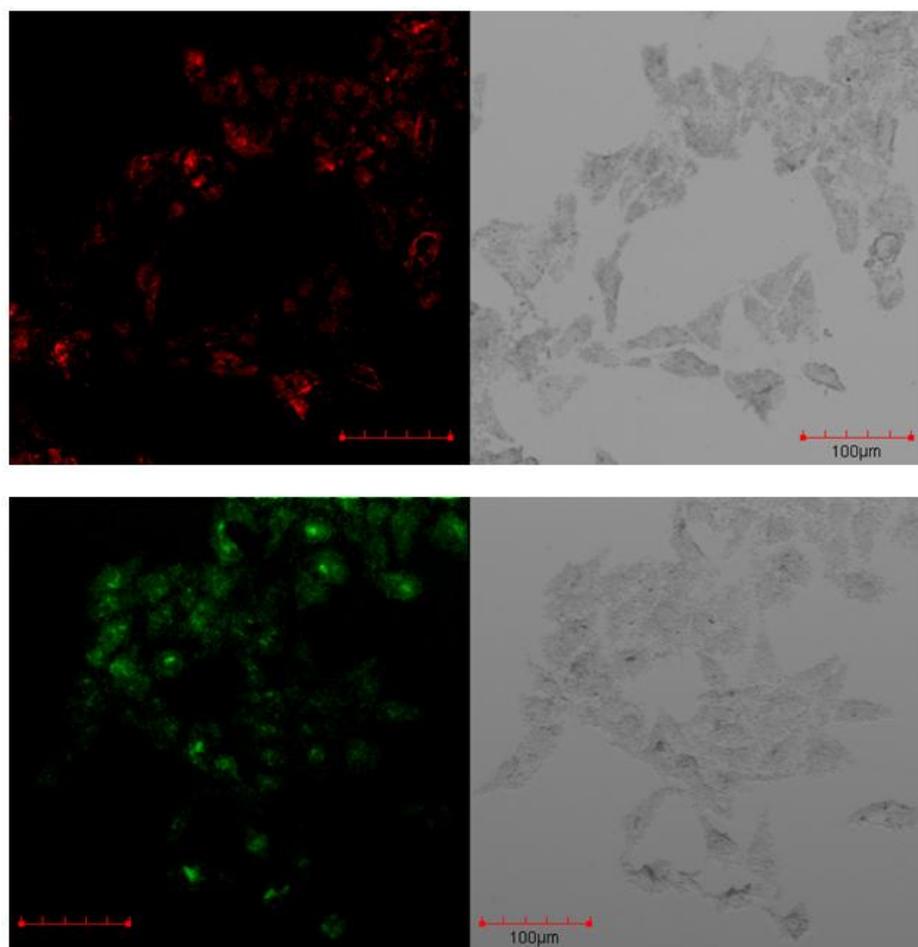


图 4.3.4.2 实图

结 论

- 1、我们在实验上通过胶体法制备了具有红色和绿色荧光的 CdTe 量子点材料，其荧光发射波长分别为 598 和 512 nm。
- 2、该量子点在修饰在二氧化硅球表面后保持了其良好的荧光特性。
- 3、以 HeLa 细胞为模型，我们研究了该量子点在活细胞成像中的应用。
- 4、实验结果证明，CdTe 量子点材料具有良好的荧光特性，可以用于活细胞成像中。

致 谢

首先，感谢每一位为科学献身的科学家，你们是指引我们青年学子不断追求的灯塔，是探索这个世界的本质的明灯。

接着，感谢东南大学给予这个先进完备的锻炼平台，让我们得以提前感受大学的研究过程，并从中收益，进一步完善自己。

其次，感谢金陵中学为我们学生提供这样宝贵的学习机会，感谢金陵中学为这个项目付出许多的戴喜老师。

再次，感谢在研究过程中耐心教导我的王著元导师，以及亲切、耐心的两位学姐。

然后，感谢于百忙中抽出时间审阅论文的教授们。

最后，感谢一直在我身后默默支持我的父母，你们永远是我前行的动力。

Preparation of fluorescent probe with CdTe quantum dots and research on its application in cell imaging

Lingxuan Sun

Abstract: Quantum dots materials has promising application prospect in biomarkers, cell imaging, biological molecules probe and other fields. Based on colloid method, water-soluble CdTe quantum dots with green and red fluorescence was prepared and characterized by optical absorption spectroscopy, fluorescence spectrometer and transmission electron microscopy. Then, SiO₂@PEI@QDs was synthesized by reacting with silica nanoparticles and polymer PEI, the structure and fluorescence properties of the nanoparticles have been characterized. We studied the application of quantum dots in a living cell imaging using HeLa cells as a model. The experimental results show that the CdTe quantum dots are easy to change the fluorescent color at the same time exhibit good fluorescence properties, making them amenable for use in living cell imaging.

Key words: Quantum dots; fluorescence nanoparticles probe; cell imaging

参考文献:

- [1] Rao H, Liu W, Lu Z, et al. Silica-coated carbon dots conjugated to CdTe quantum dots: a ratiometric fluorescent probe for copper (II)[J]. *Microchimica Acta*, 2015: 1-8.
- [2] Ye Q, Yan F, Kong D, et al. Synthesis and Applications of Fluorescent Polymers as Fluorescent Probes[J]. *Current Organic Chemistry*, 2016, 20(3): 266-288.
- [3] Michalet X, Pinaud F F, Bentolila L A, et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics[J]. *science*, 2005, 307(5709): 538-544.
- [4] Sadaf A, Zeshan B, Wang Z, et al. Toxicity evaluation of hydrophilic CdTe quantum dots and CdTe@ SiO₂ nanoparticles in mice[J]. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2012, 12(11): 8287-8292.

[5] Lin X, Wang C, Xu S, et al. Manipulation of inter-particle interactions between TiO₂ and CdTe: an effective method to enhance the performance of quantum dot sensitized solar cells[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2014, 47(1): 015103.

[6] Larson D R, Zipfel W R, Williams R M, et al. Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo[J]. *Science*, 2003, 300(5624): 1434-1436.