高等学校化学学报
CHEMICAL JOURNAL OF CHINESE UNIVERSITIES
研究论文

丝素蛋白水凝胶的剪切诱导成胶动力学与机制

陆加霖[1,2#], 庄雅灵[1,3#], 王雅楠[1,3], 常　非[2], 丁建勋[1,3], 陈学思[1,3]
(1. 中国科学院长春应用化学研究所高分子科学与技术全国重点实验室, 长春 130022;
2. 吉林大学第二医院足踝外科, 长春 130041;
3. 中国科学技术大学应用化学与工程学院, 合肥 230026)

摘要　通过剪切-加热法诱导丝素蛋白形成富含β-折叠结构的水凝胶, 系统考察了剪切时间、孵育温度及蛋白浓度对β-折叠结构组装动力学和凝胶力学性能的影响. 研究结果表明, 0.03 g/mL的丝素蛋白溶液在10000 r/min的转速下剪切10 min并于60 ℃下孵育, 可在30 min内完成凝胶化, 形成含63.51% β-折叠结构的物理交联网络, 其储能模量为25.70 kPa, 压缩强度为108.29 kPa. 进一步揭示了丝素蛋白分子链由无规卷曲向β-折叠结构转变的自组装动力学特征及其力学性能演变规律. 本文研究结果为剪切诱导丝素蛋白水凝胶的制备工艺优化及其在组织工程中的应用提供了重要参考.

关键词　丝素蛋白水凝胶; 剪切诱导; 二级结构转变; 成胶动力学; 生物医用材料
中图分类号　O636.9; O631.5　　**文献标志码**　A　　doi: 10.7503/cjcu20250327

Shear-induced Gelation Kinetics and Mechanisms of Silk Fibroin Hydrogels

LU Jialin[1,2#], ZHUANG Yaling[1,3#], WANG Yanan[1,3], CHANG Fei[2*], DING Jianxun[1,3*], CHEN Xuesi[1,3]
(*1. State Key Laboratory of Polymer Science and Technology, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun* 130022, *China*;
2. Department of Foot and Ankle Surgery, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, *China*;
3. School of Applied Chemistry and Engineering, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, *China*)

Abstract　A shear-heating method was employed to induce the formation of silk fibroin hydrogels enrich in β-sheet structures. The effects of shear duration, incubation temperature, and protein concentration on the kinetics of β-sheet assembly and the mechanical properties of resulting hydrogels were systematically investigated. The results demonstrated that a 0.03 g/mL silk fibroin solution subjected to shear at 10000 r/min for 10 min and followed by incubation at 60 ℃ completed gelation within 30 min, yielding a physically cross-linked network containing 63.51% β-sheet structures, with a storage modulus of 25.70 kPa and a compressive strength of 108.29 kPa. Furthermore, the

收稿日期: 2025-11-01. 网络首发日期: 2025-12-10.
联系人简介: 丁建勋, 男, 博士, 研究员, 主要从事生物活性高分子材料方面的研究. E-mail: jxding@ciac.ac.cn
常　非, 男, 博士, 教授, 主任医师, 主要从事骨软骨损伤疾病创新诊疗方面的研究. E-mail: changfei@jlu.edu.cn
基金项目: 国家重点研发计划项目(批准号: 2022YFE0107700)、国家自然科学基金(批准号: U21A2099, 82572761)和吉林省科技发展计划项目(批准号: 20240101002JJ)资助.
Supported by the National Key R&D Program of China(No.2022YFE0107700), the National Natural Science Foundation of China(Nos.U21A2099 and 82572761), and the Science and Technology Development Program of Jilin Province, China(No.20240101002JJ).
共同第一作者.

self-assembly kinetics of molecular chain transition from random coils to β-sheet structures and the corresponding evolution of mechanical properties were elucidated. This work provides optimized processing strategies and experimental evidence for the preparation of shear-induced silk fibroin hydrogels and supports their potential applications in tissue engineering.

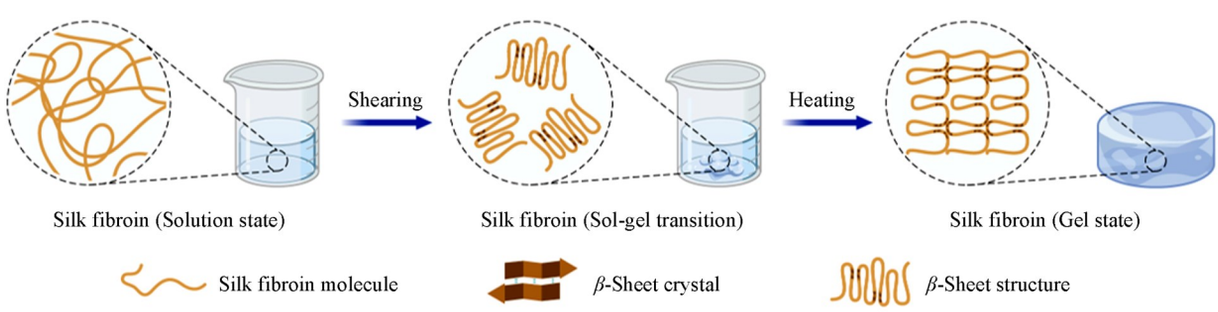
Keywords Silk fibroin hydrogel; Shear-inducing; Secondary structure transition; Gelation kinetics; Biomedical material

丝素蛋白是一类在生物医学领域广泛应用的天然高分子材料，具有优异的生物相容性、可控的降解速率及良好的力学性能[1~3]. 在组织工程研究中，丝素蛋白可被加工成水凝胶、薄膜、气凝胶/泡沫/海绵、纤维和粒子等多种形态，以适配不同的临床应用需求[4]. 丝素蛋白水凝胶的制备方式主要分为化学交联和物理交联两类[5]. 化学交联通常借助酶、交联剂或光引发剂促使分子间形成共价键，从而显著加快凝胶化进程；物理交联则依赖于分子链从无规卷曲构象向稳定β-折叠构象转变，通过自组装形成物理交联网络最终完成凝胶化[6]. 常温下，该构象转变与成胶过程往往耗时数月，但施加剪切、超声、温度、pH及电场等物理刺激可将凝胶时间缩短至数小时甚至数分钟.

在众多物理交联策略中，剪切诱导成胶因其突出优势而备受关注. 该方法快速、高效且成本低，无需外源性交联剂，可避免潜在的细胞毒性，从而显著提升材料的生物相容性[7~9]. 同时，剪切应力能够在分子水平促进丝素蛋白定向组装，推动其由无规卷曲向β-折叠二级结构转变，使所得水凝胶更好地模拟天然组织的结构与力学特征[10,11]. 已有研究表明，剪切诱导的成胶过程涉及分子链运动与重排：丝素蛋白分子在溶液中逐渐展开，首先依靠分子内与分子间的物理作用力(如氢键、π-π堆积、疏水作用等)自组装成聚集体，随后进一步形成β-折叠晶区. 这些晶区作为物理交联点或多域缠结节点，最终支撑起完整的水凝胶网络[12].

从热力学角度来看，剪切诱导过程中的构象转变是凝胶形成的关键限速步骤，而温度则调控凝胶化动力学及交联密度[13]. 因此，凝胶形成受剪切时间、剪切频率、温度变化以及蛋白浓度等多因素协同影响. 基于对剪切诱导成胶机制及其热力学特征的理解，研究者已提出多种可调控水凝胶形成速率和性能的策略，其中加速凝胶动力学尤其受到关注[14~16]. 然而，目前关于这些关键因素如何影响丝素蛋白成胶动力学及水凝胶最终性能的系统认识仍不充分，且尚缺乏统一、标准化的制备流程[17].

本文系统探讨了丝素蛋白溶液在不同制备条件下的成胶动力学. 通过流变学测试分析了孵育温度、剪切时间和蛋白浓度对水凝胶形成过程及其模量的影响. 结果显示，在0.03 g/mL蛋白浓度、以10000 r/min的转速剪切10 min以及60 ℃孵育条件下，可获得高强度丝素蛋白水凝胶(Scheme 1). 在该优化条件下，丝素蛋白溶液可于30 min内完成凝胶化，所得水凝胶的储能模量(G', kPa)达到25.70 kPa，压缩强度为108.29 kPa. 圆二色谱分析进一步揭示了成胶机制，表明高速剪切与加热孵育协同诱导丝素蛋白分子链的二级结构由无规卷曲向β-折叠转变是推动凝胶形成的关键因素. 此外，微观结构表征显示水凝胶内部形成了具有取向排列特征的自组装纤维网络，而紫外光谱与红外光谱分析也进一步验证了β-折叠结构的存在. 本文研究结果为剪切诱导丝素蛋白水凝胶的制备及成胶动力学提供了新的认识，并为其在组织工程等领域的应用奠定了实验基础.



Scheme 1 Preparation and gelation mechanism of silk fibroin hydrogel

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

水溶性丝素蛋白(纯度99%，分子量6000~10000)，苏州永沁泉智能设备有限公司.

S10型手持式高速匀浆机，上海拓赫机电科技有限公司；Anton Paar MCR 302e型流变仪，德国Anton Paar公司；Chirascan型圆二色谱仪(CD)，英国Applied Photophysics有限公司；Sigma 300型冷冻扫描电子显微镜(cryo-SEM)，德国Zeiss公司；3600型紫外-可见(UV-Vis)分光光度计，日本Shimadzu公司；Invenio-R型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)，美国Bio-Rad公司；AG-X plus型万能材料试验机，日本Shimadzu公司.

1.2 实验过程

1.2.1 *丝素蛋白水凝胶的制备* 用2.0 mL超纯水配制0.03 g/mL丝素蛋白溶液，仅在溶解初期通过手持离心管进行1至2次小幅晃动，促使丝素蛋白与超纯水接触均匀，随后将混合溶液静置2 h直至丝素蛋白完全溶解，使用高速匀浆机在10000 r/min的转速下剪切10 min，再将剪切后的溶液置于60 ℃水浴中孵育2 h形成水凝胶. 为研究制备条件对成胶行为的影响，分别改变孵育温度(40和80 ℃)、剪切时间(5和15 min)以及蛋白浓度(0.01和0.05 g/mL)，并采用相同方法制备一系列水凝胶样品.

1.2.2 *丝素蛋白水凝胶的流变学测试* 使用配备平行板夹具(直径25 mm)的Anton Paar MCR 302e型流变仪测试其流变性能. 将400 μL剪切处理后的0.03 g/mL丝素蛋白溶液置于平行板之间，设定间隙为0.5 mm，并在样品周围滴加硅油以避免水分挥发. 在1.0 Hz的振荡频率下对所有样品在0.01%~1000%应变范围内进行应变扫描，确保后续振荡测试均处于线性黏弹区. 在40，60和80 ℃条件下，以1.0%应变与1.0 Hz频率进行振荡时间扫描，监测凝胶形成过程中模量随时间的变化. 凝胶形成后，在相同应变与频率条件下继续进行振荡时间扫描，并在0.1~10 Hz频率范围内进行振荡频率扫描，记录储能模量和损耗模量(G'', kPa)，根据水凝胶到达平衡后2000 s内时间振荡的平均值确定定量数据. 采用相同方法评估不同剪切时间(5和15 min)及不同蛋白浓度(0.01和0.05 g/mL)样品的流变性能.

1.2.3 *丝素蛋白水凝胶的二级结构表征* 利用CD光谱研究丝素蛋白在成胶过程中的二级结构变化. 将0.03 g/mL丝素蛋白溶液高速剪切10 min后，于40，60和80 ℃下孵育2 h，测试其190~260 nm范围内的CD光谱，测试温度为25 ℃. 使用Dichroweb分析二级结构随时间的变化规律. 为进一步揭示成胶过程中二级结构的动态演变，将剪切后的溶液于60 ℃孵育，并分别在0，15，30，45，60，75，90，105和120 min时采集CD光谱，使用Dichroweb分析二级结构随时间的变化规律.

1.2.4 *丝素蛋白水凝胶的形貌表征* 将0.5 mL天然及剪切后的0.03 g/mL丝素蛋白溶液置于3.0 mL样品瓶中，记录其宏观形貌. 将剪切后的丝素蛋白溶液在60 ℃孵育2 h得到水凝胶，并拍摄其凝胶态宏观照片，使用cryo-SEM观察其微观形貌. 制样时，将样品固定于金属样品台，经液氮快速冷冻后转移至穿梭装置，再置于制样室中. 利用刀片划痕破裂样品，经升华处理后进行铂喷镀，最终在预冷电镜腔内以5.0 kV加速电压成像.

1.2.5 *丝素蛋白水凝胶的化学结构表征* 利用UV-Vis光谱分析丝素蛋白在成胶过程中的化学结构变化. 分别测试天然、剪切后以及剪切并于60 ℃孵育2 h的0.03 g/mL溶液，设置光谱带宽为1 nm、步长为0.01 nm，在240~400 nm范围内进行扫描. 通过FTIR分析成胶前后丝素蛋白的特征官能团变化. 将天然溶液及剪切并孵育2 h的水凝胶进行冷冻干燥后测定，扫描范围设为4000~400 cm^{-1}，分辨率为2 cm^{-1}，扫描32次.

1.2.6 *丝素蛋白水凝胶的力学性能表征* 使用万能材料试验机进行压缩测试. 将剪切处理后的0.03 g/mL溶液注入直径5 mm、厚度5 mm的圆柱模具中，于60 ℃孵育2 h得到水凝胶. 测试时设置横梁速度为0.5 mm/min，记录首次出现裂纹的失效点对应的最大应力与应变，其中最大应力定义为抗压

强度. 所有样品在相同条件下独立制备并测试3次，选取代表性结果进行分析.

2 结果与讨论

2.1 剪切诱导丝素蛋白溶液的成胶动力学

为了系统探究丝素蛋白的成胶行为，通过调控剪切时间、孵育温度及蛋白浓度等关键参数制备了一系列水凝胶，并对其成胶过程进行了流变学分析(图1和图2). 基于成核依赖性模型，剪切诱导丝素蛋白的成胶过程可分为两个阶段：首先是分子链由无规卷曲(Silk I)向β-折叠(Silk II)转变的成核过程，随后是β-折叠进一步聚集生长形成晶区的过程，后者的增长速率与溶液中无规卷曲蛋白的浓度遵循一级反应动力学关系[18,19]. 这一过程与镰状血红蛋白及阿尔茨海默病相关淀粉样β肽的病理性聚集机制具有相似性[20,21]. 需强调的是，β-折叠核心的存在是升高温度能够加速凝胶化的前提；若缺乏初始成核基础，即使温度升高也难以有效促进凝胶形成. 因此，该理论为剪切诱导丝素蛋白水凝胶的工艺优化提供了重要依据.

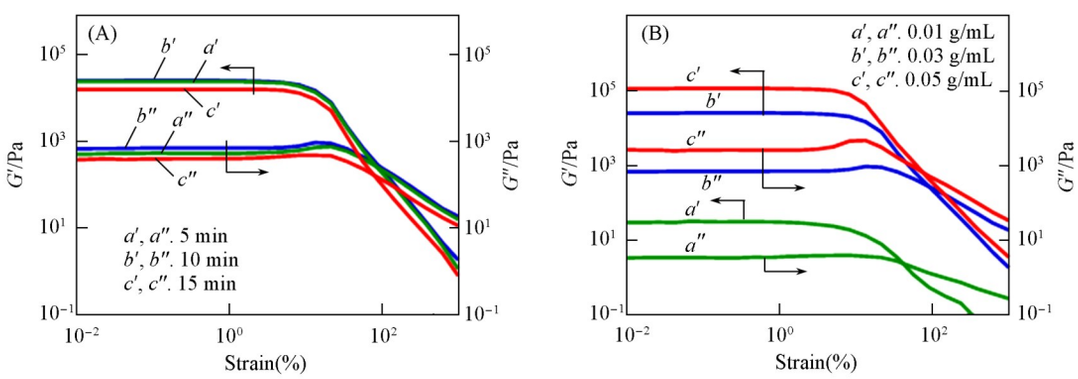


Fig. 1 Strain-dependent rheological behavior of silk fibroin(SF) hydrogels

(A) Strain sweep rheological measurements of SF hydrogels prepared with varying shear durations; (B) strain sweep of SF hydrogels formed from solutions with different concentrations.

在恒定频率1.0 Hz下，各组样品在应变≤10%时G'值基本保持稳定，均处于线性黏弹区(图1)[22]. 因此，后续在1.0%应变条件下进行的时间振荡扫描和频率振荡扫描均位于材料结构未被破坏的范围内，可真实反映丝素蛋白在凝胶化过程中的结构演变及最终力学性能，确保所得数据的可靠性. 在固定剪切时间与蛋白浓度条件下，首先考察孵育温度对成胶行为的影响. 由图2(A)~(C)可见，当孵育温度由40 ℃升高至60 ℃时，成胶时间由275 min显著缩短至30 min，且G'和G''均有明显提升，其中G'由8.59 kPa提升至25.70 kPa，力学性能增强近3倍，说明升温能够有效促进β-折叠聚集体的形成. 尽管60 ℃和80 ℃的样品在成胶时间及模量上差异不大，但80 ℃的样品易导致水分蒸发迅速，不利于凝胶稳定性，因此选择60 ℃为后续研究的最佳孵育温度.

在固定孵育温度和蛋白浓度条件下进一步探究剪切时间的作用. 由图2(D)~(F)可见，剪切时间由5 min延长至10 min后，成胶时间由140 min缩短至30 min，表明适度延长剪切时间有助于分子链解缠结、暴露疏水结构并促进β-折叠成核，从而加速聚集过程. 然而，当剪切时间继续延长至15 min后，尽管初始模量较高，但最终G'反而下降，推测可能是由于过度剪切破坏部分β-折叠核心或引起分子链断裂，削弱了凝胶网络结构. 因此，10 min被确定为最适剪切时间.

进一步系统评估了蛋白浓度对成胶行为的影响. 由图2(G)~(I)可见，0.01 g/mL的丝素蛋白溶液无法形成稳定凝胶；而0.05 g/mL的丝素蛋白溶液虽可获得G'高达195.0 kPa的高强度水凝胶，但成胶所需时间明显长于0.03 g/mL组. 该现象可能源于高浓度体系黏度较大，剪切诱导的β-折叠成核相对较少，从而延缓了聚集过程. 综合考虑成胶速率与最终力学性能，确定0.03 g/mL为最优蛋白浓度，并最终将10000 r/min转速下剪切10 min与60 ℃孵育条件确定为丝素蛋白水凝胶的最佳制备参数.

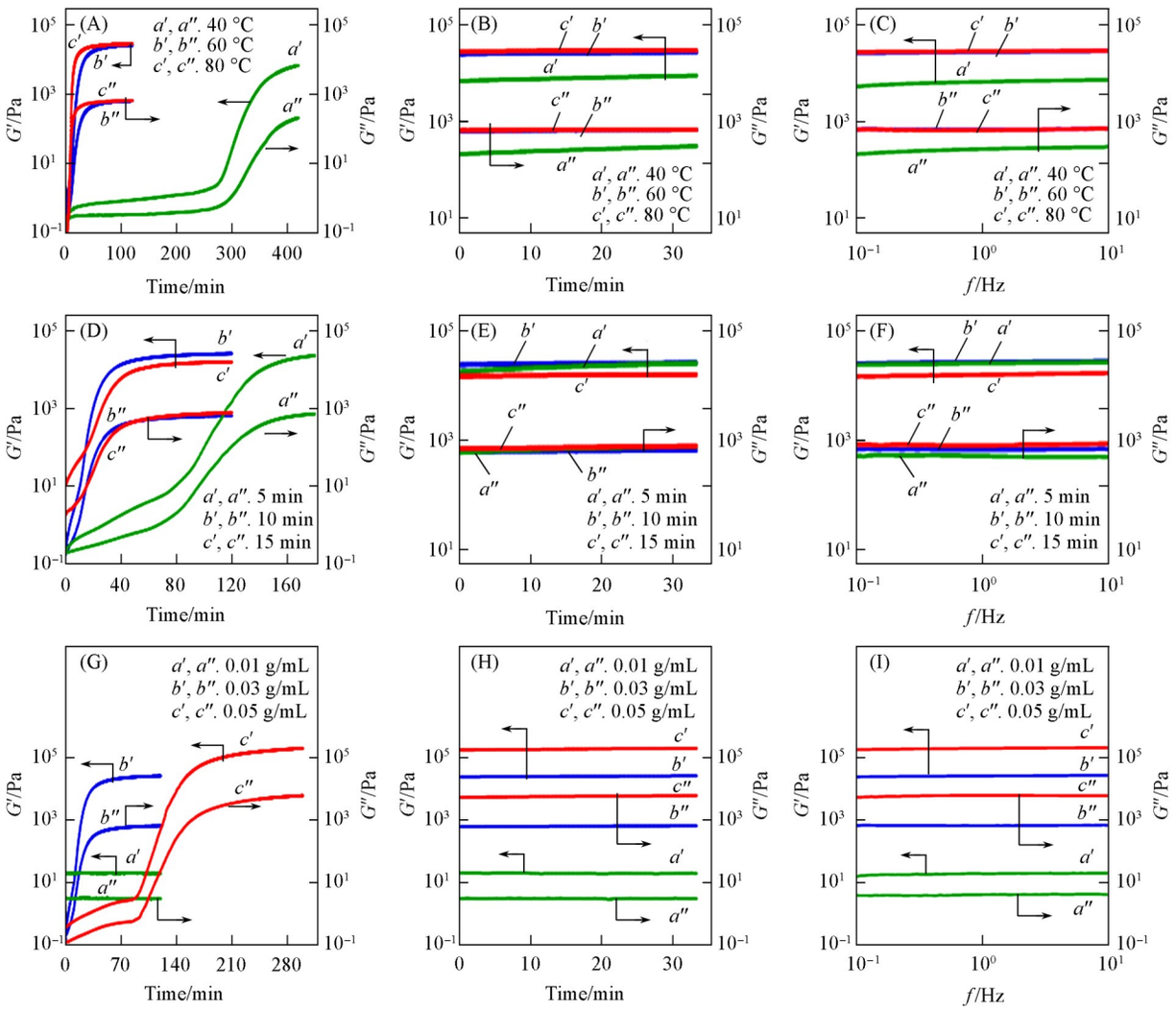


Fig. 2　Gelation kinetics of shear-induced SF solution

(A) Time sweep rheological measurements of 0.03 g/mL SF solutions after 10 min of high-speed shear at 40, 60, and 80 ℃; (B, C) time sweep (B) and frequency sweep (C) of SF hydrogels formed at 40, 60 and 80 ℃; (D) time sweep of 0.03 g/mL SF solutions sheared for 5, 10, or 15 min at 60 ℃; (E, F) time sweep (E) and frequency sweep (F) of SF hydrogels prepared with shearing 5, 10, and 15 min; (G) time sweep of 0.01, 0.03, and 0.05 g/mL SF solutions sheared for 10 min at 60 ℃; (H, I) time sweep (H) and frequency sweep (I) of SF hydrogels formed from solutions with different concentrations.

2.2　剪切诱导丝素蛋白溶液的成胶机制

CD光谱是解析蛋白质或多肽二级结构变化的有效手段，通过监测不同孵育温度下的CD信号，可揭示丝素蛋白的温度响应行为[23]. 由图3(A)可见，天然丝素蛋白溶液在194 nm处呈现强负吸收峰，表明其主要为无规卷曲构象. 经剪切处理并加热孵育后，溶液在195 nm处出现正吸收峰，在218 nm处出现负吸收峰，提示分子链中已形成β-折叠结构. 此外，随着孵育温度升高，195 nm处正吸收峰进一步增强，而218 nm处负吸收峰逐渐减弱，说明升温能够促进β-折叠的形成. 利用Dichroweb在线平台对CD光谱进行定量分析[图3(B)和(C)]，结果显示丝素蛋白在高速剪切后，其二级结构由β-折叠和α-螺旋暂时转变为更多无规卷曲；随后的加热孵育过程又推动无规卷曲重新向β-折叠转变. 具体而言，β-折叠含量由剪切后的44.79%上升至60 ℃孵育后的63.51%，增幅达到18.72%，且升温显著加速该转变过程，有助于促进丝素蛋白构象重排并提升凝胶的力学性能.

为进一步阐明成胶过程中二级结构的动态演变，对剪切后的丝素蛋白溶液在60 ℃孵育不同时间点的CD光谱进行监测[图3(D)]. 结果表明，随孵育时间延长，195 nm处正向吸收带不断增强，218 nm

处负向吸收峰逐渐加深，表明β-折叠结构持续形成并进一步聚集．二级结构的定量分析结果表明，在120 min内β-折叠含量持续上升，由初始的46.27%增加至65.21%[图3(E)]．其中，前30 min的增幅高达12.86%，随后趋于平稳，表明丝素蛋白分子链的构象转变在前30 min内即完成主要阶段，并与流变学表征中观察到的快速凝胶化过程高度一致．上述结果进一步证实，剪切处理与加热孵育共同诱导丝素蛋白分子链由无规卷曲向β-折叠转变，是剪切诱导成胶的核心机制．这一物理交联策略同样适用于其它具备β-折叠形成能力的蛋白质或多肽体系，但具体工艺参数仍需根据不同材料体系的特性进一步优化与验证．

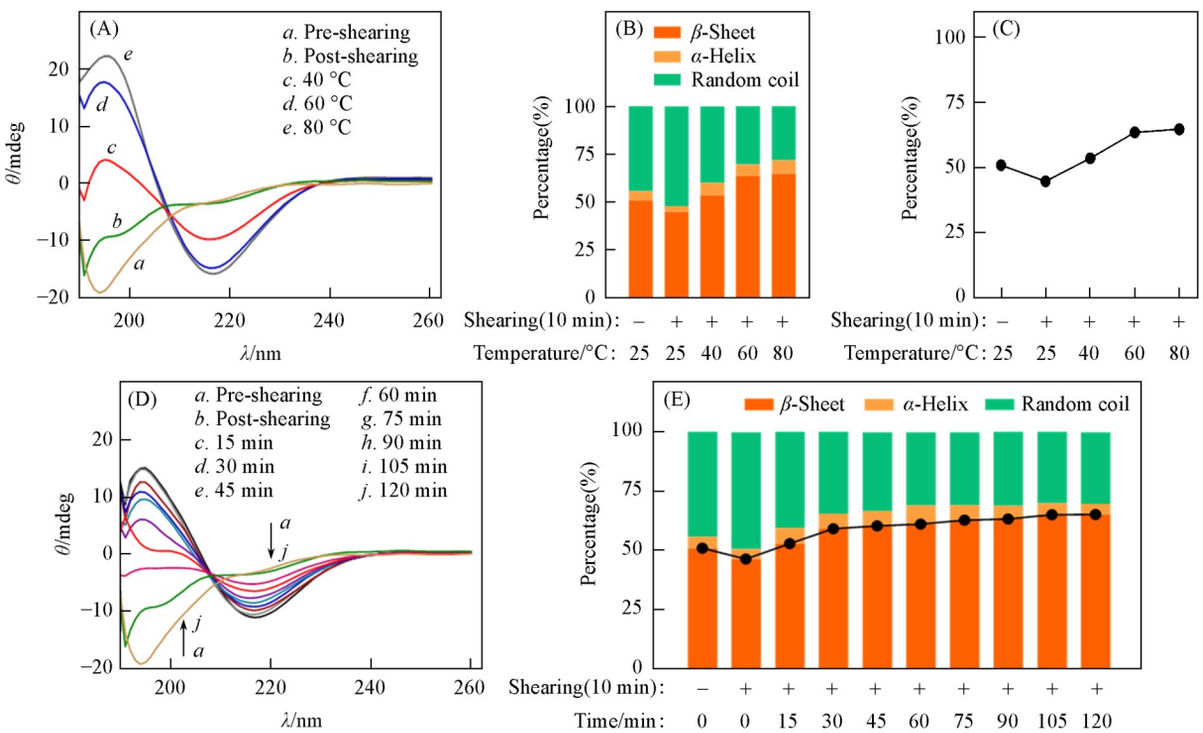


Fig. 3　Circular dichroism spectra analysis of SF secondary structure transitions

(A) CD spectra of SF solution, post-shearing SF solution and post-shearing SF solutions incubated at 40, 60, or 80 ℃ for 2 h; (B) quantification of β-sheet, α-helix, and random coil content in corresponding groups; (C) quantification of β-sheet content of SF under different processing conditions; (D) CD spectra of pre-shearing SF solution, post-shearing SF solution and post-shearing SF solutions incubated at 60 ℃ for 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, or 120 min; (E) relative content of β-sheet, α-helix, and random coil structures for all samples, where the overlaid data points represent the variation in β-sheet content.

2.3　剪切诱导丝素蛋白水凝胶的结构和性能分析

在明确丝素蛋白的成胶机制后，进一步利用cryo-SEM、UV-Vis吸收光谱、FTIR光谱以及压缩测试对最优工艺条件下所得水凝胶的结构与性能进行了评估(图4~图8)．由图4可见，0.03 g/mL的丝素蛋

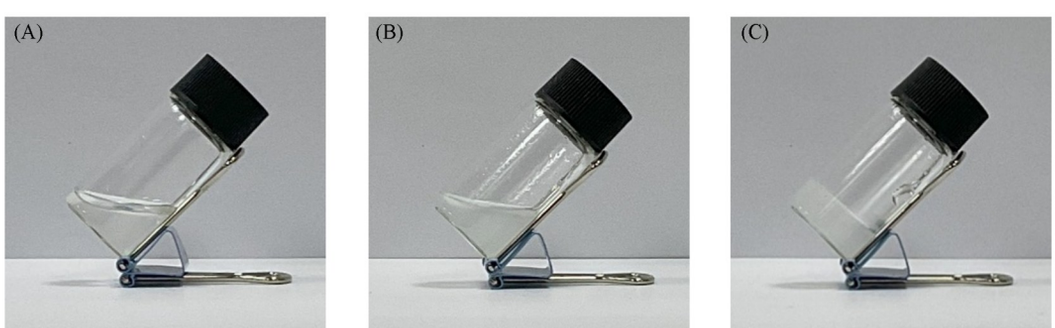


Fig. 4　Macroscopic appearance of SF solution(A), post-shearing SF solution(B) and SF hydrogel(C)

白溶液经剪切处理与加热孵育后由溶液成功转变为稳定的水凝胶.

为证实水凝胶中β-折叠物理交联网络的形成，通过 cryo-SEM 对其微观形貌进行观察. 由图 5 可见，天然丝素蛋白溶液冷冻干燥后呈现高度有序的长片状柱体结构，结构之间存在纵向裂隙. 这种形貌源于冰晶模板诱导效应：在冷冻过程中，水分子沿特定方向进行晶体生长，丝素蛋白被排挤至晶界并沿其方向排列，最终形成平行取向的片柱状结构[24]. 同时，在被挤压至晶界的过程中，局部蛋白浓度升高，易发生自聚集并形成球状富集区. 相比之下，经剪切与加热处理的样品呈现典型的三维网络结构，反映β-折叠交联网络的生成[25]. 剪切作用可使分子链拉伸并沿流动方向排布，促进疏水基团暴露和链间接触；随后的加热处理可提高分子链运动性，促进构象重排及稳定β-折叠结构的形成. 这些β-折叠区域作为刚性晶核，进一步诱导分子沿轴向堆叠并自组装形成纤维结构. 此外，冷冻过程中冰晶的生长受限于蛋白网络、界面粗糙度及热量传导不均等因素，进而形成分级多孔结构，影响水凝胶的最终微观形貌.

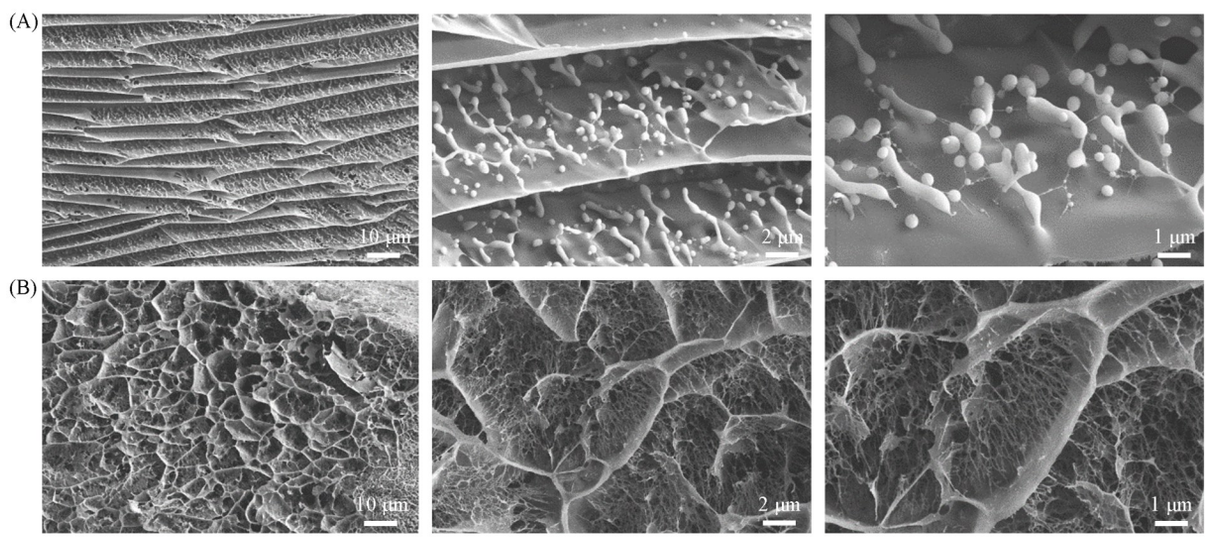


Fig. 5　Cryo-SEM images of SF solution(A) and hydrogel(B) with different magnifications

UV-Vis 吸收光谱可在分子水平反映丝素蛋白成胶过程中的微观变化. 天然、剪切处理后以及剪切并加热孵育形成凝胶的样品在 275 nm 均出现由苯丙氨酸和酪氨酸等芳香族氨基酸引起的典型吸收峰，且成胶过程中未观察到吸收峰红移或峰宽变化，说明凝胶化并未破坏蛋白主链结构，也未发生共价键断裂或侧链化学修饰(图 6)[26].

FTIR 光谱进一步验证了丝素蛋白从无规卷曲向β-折叠的构象转变(图 7)[27]. Amide I 区的吸收峰由

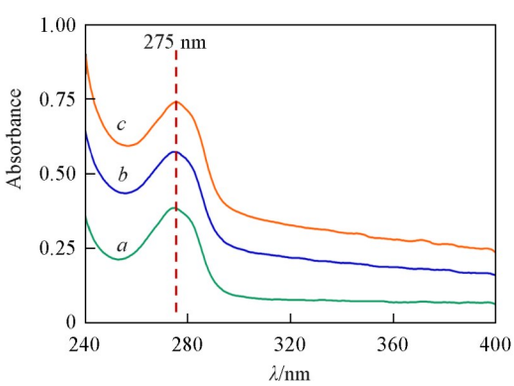


Fig. 6　UV-Vis spectra of SF solution(*a*), post-shearing SF solution(*b*), and post-shearing SF solution incubated at 60 ℃ for 2 h(*c*)

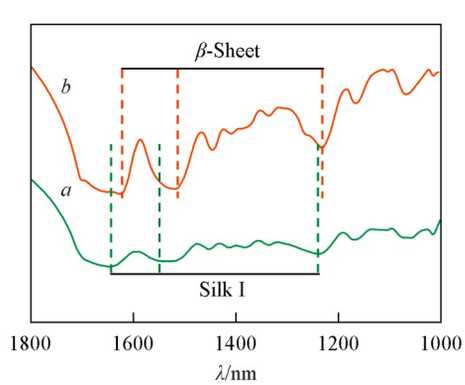


Fig. 7　FTIR spectra of SF solution(*a*) and hydrogel(*b*)

约1645 cm^{-1}向约1625 cm^{-1}红移并增强，表明C═O伸缩振动环境发生变化，反映酰胺键取向性和氢键网络有序性的提高[28]. Amide II区吸收峰由1540~1550 cm^{-1}红移至1515~1530 cm^{-1}，进一步说明N—H基团参与链间氢键的形成；Amide III区吸收峰由1245~1255 cm^{-1}迁移至1220~1230 cm^{-1}，峰形变窄，指示蛋白骨架排列有序性增强. 上述特征共同证明β-折叠结构是水凝胶网络的主要构象基础.

此外，对丝素蛋白水凝胶的压缩测试结果表明，其抗压强度可达108.29 kPa(图8). 图8中的应力-应变曲线为3次独立测试的结果，其展现的力学行为稳定且可复现. 水凝胶在压缩过程中的应力-应变曲线大致可分为线性弹性阶段、屈服阶段、应变硬化阶段和破坏阶段等4个阶段[29]. 首先，在应力作用下，凝胶内部蛋白网络链段开始重排以抵抗外力，网络结构发生整体可逆形变，此阶段为线性弹性阶段，对应0~20%应变；随着应力继续增强，凝胶内部网络中的物理交联点，包括氢键和疏水相互作用逐渐破裂，起到能量耗散和牺牲键的作用，此阶段称屈服阶段，对应20%~60%应变；当应力进一步上升，凝胶内部发生链段重排和孔隙塌陷，分子网络更加致密，此阶段为应变硬化阶段，对应60%~75%应变；最终，当应力增大直至超过凝胶的极限载荷，网络整体断裂塌陷，失去承载能力，凝胶进入破坏阶段.

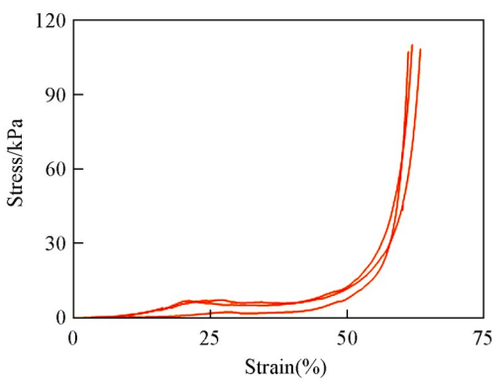


Fig. 8 Compressive stress-strain curves of SF hydrogels(n=3)

3 结　论

系统阐明了高速剪切与加热孵育在丝素蛋白凝胶化过程中的协同作用机制. 在所确定的最优工艺条件(0.03 g/mL蛋白浓度、10000 r/min的转速下剪切10 min、60 ℃孵育)下，丝素蛋白可在30 min内高效完成由无规卷曲向β-折叠的二级结构转变并形成稳定凝胶. 流变学与CD光谱分析表明，剪切处理能够促进分子链解缠结和β-折叠成核，而加热则显著加速β-折叠聚集体的生长，二者通过成核依赖机制协同构建三维物理交联网络，使所得水凝胶具备25.70 kPa的储能模量与108.29 kPa的抗压强度. 同时，cryo-SEM与光谱分析表征表明水凝胶内部形成了以β-折叠为基础的取向纤维网络结构，该网络为外加载荷提供有效的应力传递与能量耗散路径，从而显著提升水凝胶的抗压性能与整体力学强度. 本文提出的工艺策略兼具快速成胶与高力学性能等优势，且整个过程无需外源性交联剂，理论上具有较好的生物相容性，为丝素蛋白物理交联水凝胶在组织工程支架、药物递送系统等生物医用领域的应用提供了重要实验依据.

参　考　文　献

[1] Bucciarelli A., Motta A., *Biomater. Adv.*, **2022**, *139*, 212982
[2] Zhou Z., Cui J., Wu S., Geng Z., Su J., *Theranostics*, **2022**, *12*(11), 5103—5124
[3] Lin D. M., Li M. Q., Wang L. L., Cheng J. L., Yang Y. F., Wang H. L., Ye J., Liu Y. L., *Adv. Funct. Mater.*, **2024**, *34*(39), 2405255
[4] Rockwood D. N., Preda R. C., Yucel T., Wang X., Lovett M. L., Kaplan D. L., *Nat. Protoc.*, **2011**, *6*(10), 1612—1631
[5] Shen C., Zhou Z., Li R., Yang S., Zhou D., Zhou F., Geng Z., Su J., *Theranostics*, **2025**, *15*(2), 560—584
[6] Cao L. T., Ye C., Zhang H., Yang S., Shan Y. C., Lv Z. C., Ren J., Ling S. J., *Adv. Funct. Mater.*, **2023**, *33*(27), 2301404
[7] Yu X., Lin F., Zhuang Y. L., Yan S. F., Zhang K. X., Cui W. G., Yin J. B., *Chem. Eng. J.*, **2024**, *499*, 156171
[8] Davis N. E., Beenken-Rothkopf L. N., Mirsoian A., Kojic N., Kaplan D. L., Barron A. E., Fontaine M. J., *Biomaterials*, **2012**, *33*(28), 6691—6697
[9] Kojic N., Pritchard E. M., Tao H., Brenckle M. A., Mondia J. P., Panilaitis B., Omenetto F., Kaplan D. L., *Adv Funct Mater.*, **2012**, *22*(18), 3793—3798
[10] Yang K., Zhang J., Zhang C., Guan J., Ling S., Shao Z., *Chem. Soc. Rev.*, **2025**, *54*(10), 4973—5020
[11] Li X. Y., Gong J. P., *Nat. Rev. Mater.*, **2024**, *9*(6), 380—398

[12] Fu L. L., Li H. B., *Polym. Sci. Technol.*, **2025**, *1*, 342—350
[13] Fan L., Cai Z., Zhao J., Mahmoudi N., Wang Y., Cheeseman S., Aguilar L. C., Reis R. L., Kundu S. C., Kaplan D. L., Nisbet D. R., Li J. L., *ACS Nano*, **2025**, *19*(19), 17979—18002
[14] Yuan T., Li Z., Zhang Y., Shen K., Zhang X., Xie R., Liu F., Fan W., *Tissue Eng. Part A.*, **2021**, *27*(17/18), 1213—1224
[15] Liang R., Li R., Mo W., Zhang X., Ye J., Xie C., Li W., Peng Z., Gu Y., Huang Y., Zhang S., Wang X., Ouyang H., *Bioact. Mater.*, **2024**, *40*, 541—556
[16] Zou Y. P., Liang H. F., Wang B., Zhang Q. C., Su D. H., Lu S. Y., Zhang Q. Y., Wu T., Xiao L., Xiao Y., Dong J., Jiang L. B., Li X. L., *Adv. Funct. Mater.*, **2023**, *33*(29), 2302442
[17] Tran H. A., Hoang T. T., Maraldo A., Do T. N., Kaplan D. L., Lim K. S., Rnjak-Kovacina J., *Mater. Today*, **2023**, *65*, 244—259
[18] Kamada A., Toprakcioglu Z., Knowles T. P. J., *Biomacromolecules*, **2023**, *24*(4), 1709—1716
[19] Higashi T., Okamura H., Sato T. K., Morinaga T., Satoh R., Suzuki Y., *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2024**, *10*(10), 6135—6143
[20] Kozin S. A., Kechko O. I., Adzhubei A. A., Makarov A. A., Mitkevich V. A., *Int. J. Mol. Sci.*, **2023**, *25*(1), 72
[21] Martins G. F., Galamba N., *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **2023**, *58*(1), 50—80
[22] Li Z. L., Zhou D. Z., *Chem. J. Chinese Universities*, **2025**, *46*(7), 20240546(李智立, 周德重. 高等学校化学学报, **2025**, *46*(7), 20240546)
[23] Tolmachev D. A., Malkamaki M., Linder M. B., Sammalkorpi M., *Biomacromolecules*, **2023**, *24*(12), 5638—5653
[24] Sun M., Li Q., Yu H., Cheng J., Wu N., Shi W., Zhao F., Shao Z., Meng Q., Chen H., Hu X., Ao Y., *Bioact. Mater.*, **2022**, *8*, 505—514
[25] Tran H. A., Maraldo A., Ho T. T., Thai M. T., van Hilst Q., Joukhdar H., Kordanovski M., Sahoo J. K., Hartsuk O., Santos M., Wise S. G., Kaplan D. L., Do T. N., Kilian K. A., Lim K. S., Rnjak-Kovacina J., *Small*, **2025**, *21*(16), e2407923
[26] Cheng B. C., Lei Z. Y., Wu P. Y., *Nano Res.*, **2022**, *15*(9), 8675
[27] Chen W., Liu K., Liao X., Wu J., Chen L., Yang Z., Wang X., Liao Y., Fu G., Yang X., Wang Z., Qu G., Wang L., Zhou Y., Zhang Z., Yang C., Ni S., Zheng J., Tao T. H., Zou D., *Adv. Mater.*, **2024**, *36*(13), e2310697
[28] Qi Y., Fan H. L., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, *40*(5), 776—785
[29] Yang B., Ding X., Xu J., Li Y., Gu R., Zhang H., Hou Z. S., *Chem. J. Chinese Universities*, **2025**, *46*(9), 20250098(杨兵, 丁霞, 徐钧, 李烨, 谷瑞, 张会, 侯昭升. 高等学校化学学报, **2025**, *46*(9), 20250098)

(Ed.: W, K, M)