

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 12 月 30 日 (30.12.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/259490 A1

- (51) 国际专利分类号:
A01K 67/04 (2006.01) *C09K 11/02* (2006.01)
A23K 50/90 (2016.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2020/097679
- (22) 国际申请日: 2020 年 6 月 23 日 (23.06.2020)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910558728.9 2019年6月26日 (26.06.2019) CN
- (71) 申请人: 浙江大学(ZHEJIANG UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市西湖区浙大路 38 号, Zhejiang 310027 (CN)。
- (72) 发明人: 杨明英(YANG, Mingying); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫金港校区农生环 C305, Zhejiang 310058 (CN)。王捷(WANG, Jie); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫金港校区农生环 C305, Zhejiang 310058 (CN)。陈玉银(CHEN, Yuyin); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫金港校区农生环 C305, Zhejiang 310058 (CN)。张颖(ZHANG, Ying); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫金港校区农生环 C305, Zhejiang 310058 (CN)。

- (74) 代理人: 杭州知闲专利代理事务所(特殊普通合伙)(HANGZHOU ZHIXIAN PATENT AGENCY); 中国浙江省杭州市西湖区古墩路 616 号同人精华大厦 1 号楼 938 室黄燕, Zhejiang 310000 (CN)。
- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条 (3))。

(54) Title: PREPARATION METHOD FOR MULBERRY SILK THAT FLUORESCES UNDER NEAR-INFRARED LIGHT AND PRODUCT

(54) 发明名称: 一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法及产品

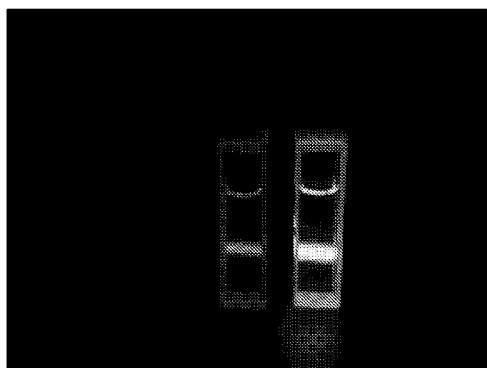


图 1

(57) Abstract: Disclosed is a preparation method for mulberry silk that fluoresces under near-infrared light, comprising: (1) preparing upconversion nanoparticles, and performing surface modification with concanavalin to obtain modified upconversion nanoparticles; (2) uniformly dispersing the modified upconversion nanoparticles in water to formulate an aqueous solution of the upconversion nanoparticles; (3) picking mature mulberry leaves, immersing the mulberry leaves in the aqueous solution system of the nanoparticles, leaching water, and naturally drying the mulberry leaves; (4) after silkworms have grown for a set time, feeding the treated mulberry leaves to the silkworms until the silkworms spin silk cocoons; and (5) collecting the silk, so as to obtain mulberry silk that fluoresces under near-infrared light. The present invention selects upconversion nanoparticles capable of emitting fluorescence under the irradiation of near-infrared light which has stronger penetration, thus has better application in deep tissue imaging. Furthermore, the upconversion nanoparticles have more stable properties, higher biological safety, stronger signal-to-noise ratio, and a wider application range.

(57) 摘要：本发明公开了一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，包括：(1)制备上转换纳米颗粒，并用伴刀豆球蛋白进行表面修饰，获得修饰后的上转换纳米颗粒；(2)将修饰后的上转换纳米颗粒在水中均匀分散，配制成上转换纳米颗粒水溶液；(3)摘取成熟桑叶，将桑叶浸没于纳米颗粒水溶液体系中，将水沥净后自然晾干；(4)待家蚕生长至设定时间后，对家蚕饲喂处理后桑叶，直至家蚕吐丝结茧；(5)收集蚕丝，得到近红外光照下发荧光桑蚕丝。本发明选用能够在穿透力更强的近红外光照射下发射荧光的上转换纳米颗粒，对于深层组织成像有更好的应用。且上转换纳米颗粒性质更加稳定、生物安全性更高，信噪比更强，适用范围更加广阔。

一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法及产品

技术领域

本发明属于蚕丝纤维生产和加工领域，具体是涉及一种制备近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法。

背景技术

蚕丝纤维素有“纤维皇后”之美誉，其力学性能优异，形成的织物手感顺滑、色泽鲜明，并且具有良好的透气性和隔热性。因此，蚕丝纤维在我国经济发展历程中发挥了重要的作用。然而，随着人造纤维工业化合成技术的迅猛发展，传统的蚕桑纺织行业正遭受严峻的挑战。近年来，对天然蚕丝改性的研究受到越来越多的关注，研究者将功能化大分子通过不同手段导入或修饰于蚕丝纤维，使蚕丝纤维性能改善，提升其应用价值。目前，有研究将蚕丝改造成具有荧光的蚕丝纤维，运用于体内成像和检测。然而，在实际应用中发现，普通的蚕丝纤维具有很强的自发荧光，在紫光和绿光照射下能散发黄色和红色荧光，严重干扰检测应用。另一方面，目前获得的荧光蚕丝都是在可见光激发条件下，而可见光穿透性能差，很难达到体内深层组织，被激发的荧光也极易猝灭，限制其体内活体成像的应用。因此，寻求合适的方法改性蚕丝纤维，使其具备实用价值显得尤为重要。

上转换纳米颗粒是由稀土离子构成的发光体，能够将长波长的近红外光转换成短波长的可见光，发光稳定、信噪比高。与常见的发光材料如花青素类、量子点粒子相比，上转换纳米颗粒性质稳定、生物毒性小、发光强度高，在生物医学检测、成像领域具有广泛的应用。因此，将上转换纳米颗粒与蚕丝纤维结合，寻求纤维改性，能够增强蚕丝纤维在体内成像和检测领域的实用可行性。在现有技术中，有将上转换纳米颗粒与再生蚕丝蛋白混合，通过静电纺丝制成发光蚕丝纤维。然而，静电纺丝方法耗时长，产量低，无法实现批量化生产。此外，有技术对蚕丝纤维进行上转换纳米

颗粒表面修饰，表面修饰的上转换纳米颗粒往往分布不均匀，极易脱落。因此，有必要研发出一种能简单、大批量获得含有上转换纳米颗粒的新型方法，使其在近红外光照下发出荧光的桑蚕丝。

发明内容

为了克服现有制备荧光蚕丝技术中存在的荧光特异性低、激发光穿透力弱，成像、检测应用困难等缺陷，本发明提供了一种制备近红外光激发荧光的桑蚕丝制备方法，这种方法不仅能提高荧光强度高、穿透力强、生物相容性好的荧光蚕丝纤维，而且适合大量生产，对环境无污染。

一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，包括如下步骤：

- (1) 制备上转换纳米颗粒，并用伴刀豆球蛋白进行表面修饰，获得修饰后的上转换纳米颗粒；
- (2) 将步骤(1)的上转换纳米颗粒在水中均匀分散，配制成浓度为上转换纳米颗粒水溶液；
- (3) 摘取成熟桑叶，将桑叶浸没于步骤(2)的纳米颗粒水溶液体系中，后捞出，将水沥净后自然晾干；
- (4) 待家蚕生长至设定时间后，对家蚕饲喂步骤(3)的桑叶，直至家蚕吐丝结茧；
- (5) 收集蚕丝，得到近红外光照下发荧光桑蚕丝。

本发明可以采用平板诱导其吐平板丝或者待其上簇结茧后缫丝，两种方法均可获得近红外光照下发荧光的桑蚕丝。最终获得近红外光照下发荧光的改性桑蚕丝，可用于医学、生物领域的体内成像和检测分析。

作为优选，所述上转换纳米颗粒为核壳结构。实验表明，核壳结构的上转换纳米颗粒荧光强度更高（如图1）。

作为优选，本发明可以选择聚丙烯酸（PAA）修饰的核壳结构上转换纳米颗粒。

本发明合成并制备聚丙烯酸（PAA）修饰的核壳结构上转换纳米颗粒（UCNPs），引入伴刀豆球蛋白（ConA），利用交联剂 1-乙基-3-（3-二甲氨基丙基）-碳化二亚胺（EDC/NHS）将伴刀豆球蛋白接枝到上转换纳米

颗粒表面，形成复合共聚体。制备聚丙烯酸（PAA）修饰的核壳结构上转换纳米颗粒的方法如下：

采用现有的方法制备核壳结构上转换纳米颗粒（ β -NaYF₄:Yb,Er@ β -NaYF₄），将其分散在正己烷溶液中。采用配体交换法对纳米颗粒表面进行聚丙烯酸（PAA）接枝，将 1 mL 上转换纳米颗粒溶液与 5mL 二甲基甲酰胺（DMF）共混，随后再加入 4mL 正己烷，3 小时搅拌。添加 5-10mL 异丙醇进行沉淀并用 DMF 洗涤数次。将沉淀重悬在 PAA/DMF 溶液中，PAA 浓度 10mg/mL (5-10 mL)，过夜搅拌后离心洗涤。

作为优选，用伴刀豆球蛋白进行表面修饰的方法如下：

取 10 mg PAA 修饰的纳米颗粒分散在 1mL 水溶液中，分别加入 EDC 和 NHS 各 1 mg，搅拌反应 3-6 h，随后 30 uL 伴刀豆角蛋白水溶液（3-10 mg/mL），搅拌过夜，离心洗涤后可得到伴刀豆角蛋白修饰的上转换纳米颗粒。

作为优选，本发明可以使用的上转换纳米颗粒包括但不限于 β -NaYF₄:Yb,Er@ β -NaYF₄ 上转换纳米颗粒，还可以通过其他制备方法获得如 NaGdF₄:Yb/Er@NaGdF₄:Yb/Nd 或无壳结构的 NaYF₄:Yb,Er 或发红色荧光的上转换纳米颗粒等。

作为优选，所述上转换纳米颗粒水溶液的浓度为 1~5g/L。

家蚕从五龄第三天开始丝腺细胞变大，吃进去的桑叶大部分进行转换合成蚕丝蛋白，而在这之前桑叶只是生长所需营养或者被排泄，为了提高喂食效率，作为优选，待家蚕生长至五龄第三天时，对家蚕饲喂步骤（3）的桑叶。对于 1~4 龄蚕喂食普通桑叶。

作为优选，步骤（1）得到的修饰后的上转换纳米颗粒的平均直径为 50~100nm。发射光颜色可为绿色、红色或黄色等。

相比于传统采用喷洒的方式处理桑叶，所述步骤（3）桑叶处理方式为浸提晾干处理，能使纳米颗粒更为均匀的分布于桑叶正反表面，能够进行有效的比较分析，避免了传统喷淋方式分布不均的缺陷。且进行浓度定量处理时也更加精确，且提高家蚕摄取效率。作为优选，步骤（3）中，桑叶浸没时间为 2~5min。

作为优选，步骤（5）中，采用诱导家蚕平板吐丝收集蚕丝。获得的蚕丝可以直接进行实际应用。

本发明中，所述步骤（1）中的伴刀豆球蛋白是一种四聚体球蛋白，能够沉淀包括葡聚糖、果聚糖等多种糖类，以及免疫球蛋白和血型物质等多种糖蛋白，能够与多种细胞结合或反应。该发明中引入伴刀豆球蛋白修饰上转换纳米颗粒，旨在提高纳米颗粒与家蚕体内的细胞亲和力，更有效的参与丝蛋白合成，形成荧光蚕丝纤维。

所述步骤（2）中制备的是亲水性上转换纳米颗粒，因此，在水溶液体系中具有良好的分散性。

一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝，其特征在于，由上述任一技术方案所述的方法制备得到。

本发明可通过近红外光激发进行荧光检测，此外通过电感耦合-等离子体质谱（ICP-MS）检测纳米纤维中组成 UCNP 的稀土元素含量。

本发明选择上转换材料，相比于传统的荧光素钠具有更容易被猝灭，荧光维持时间短的缺陷，上转换材料有更长的光稳定性。

传统饲喂方法，单纯饲喂罗丹明、荧光素钠等荧光化学物，产生的荧光往往只分布在丝胶蛋白中，很少在丝素蛋白出现，脱胶后就不再有荧光。而本发明由于伴刀豆球蛋白的修饰，能够增强添食材料与丝腺细胞之间的亲和力，提高了丝素蛋白的荧光效果。

我们通过添加引入伴刀豆球蛋白进行修饰，提高家蚕体内纳米颗粒与丝蛋白的结合，弥补传统饲喂方法生产的荧光蚕丝目的颗粒少，效果差等缺陷。

本发明公开了一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法。目前，还没有一种简单工艺能够直接获得在近红外光激发下散发荧光的桑蚕丝。本发明首先制备核壳结构上转换纳米颗粒，并用伴刀豆球蛋白进行表面修饰，获得纳米颗粒共聚体；将上转换纳米颗粒分散在水中，配制成浓度为 1~5g/L 的水溶液；将新鲜桑叶浸没于纳米颗粒水溶液中 2~5min，捞出后自然晾干；然后待家蚕生长至五龄第三天时，对其进行饲喂纳米颗粒处理后的桑叶直至吐丝结茧；采用平板诱导或者蚕茧缂丝的方法获得改性桑

蚕丝。用 980nm 波长的近红外光激发后，改性桑蚕丝能够发不同颜色的明亮荧光，可用于体内成像观察以及生物分子的有效检测。

与现有技术相比，本发明具有以下突出优点：

(1) 本发明选用上转换纳米颗粒作为添食制剂。与其他荧光量子点添食处理相比，上转换纳米颗粒能够在穿透力更强的近红外光照射下发射荧光，对于深层组织成像有更好的应用。此外，与荧光量子点相比，上转换纳米颗粒性质更加稳定、生物安全性更高，信噪比更强，适用范围更加广阔。

(2) 本发明引入伴刀豆球蛋白进行修饰，能够提高纳米颗粒与丝蛋白的结合，弥补传统饲喂方法生产的荧光蚕丝目的颗粒少，效果差等缺陷。

(3) 本发明采用浸提法对饲喂桑叶进行处理，使纳米颗粒覆盖更加均匀，并能进行有效的定量比较。

附图说明

图 1 为非核壳结构上转换纳米颗粒和核壳结构的上转换纳米颗粒在 980nm 激光激发下的荧光图片。（左侧为非核壳结构上转换纳米颗粒，右侧为核壳结构上转换纳米颗粒）

图 2 为实施例 1 中获得的平板丝在 980nm 激光照射下的荧光图。

具体实施方式

下面通过实施例对本发明做进一步的详细说明，以下实施例是对本发明的解释而本发明并不局限于以下实施例。

本发明的实施例如下：

实施例 1

(1) 利用水热法制备激发绿色荧光的核壳结构上转换纳米颗粒（ β -NaYF₄:Yb,Er@ β -NaYF₄），直径约 50nm，进行表面聚丙烯酸（PAA）修饰后接枝伴刀豆球蛋白，作为添食原料，合成方法如下：

采用现有的方法（*J. Am. Chem. Soc.* 128, 6426 - 6436.）制备核壳结构上转换纳米颗粒（ β -NaYF₄:Yb,Er@ β -NaYF₄），将其分散在正己烷溶液中。采用配体交换法对纳米颗粒表面进行聚丙烯酸（PAA）接枝，将 1 mL

上转换纳米颗粒溶液与 5mL 二甲基甲酰胺(DMF)共混,随后再加入 4mL 正己烷,3 小时搅拌。添加 5-10mL 异丙醇进行沉淀并用 DMF 洗涤数次。将沉淀重悬在 PAA/DMF 溶液中, PAA 浓度 10mg/mL (5-10 mL), 过夜搅拌后离心洗涤。取 10 mg PAA 修饰的纳米颗粒分散在 1mL 水溶液中, 分别加入 EDC 和 NHS 各 1 mg, 搅拌反应 3-6 h, 随后 30 uL 伴刀豆角蛋白水溶液 (3-10 mg/mL), 搅拌过夜, 离心洗涤后可得到伴刀豆角蛋白修饰的上转换纳米颗粒;

(2) 将步骤(1)合成的上转换纳米颗粒用水分散, 配制成浓度为 2g/L 的分散溶液;

(3) 摘取成熟桑叶, 浸泡于步骤(2)的纳米颗粒溶液中, 浸泡 2min 后捞出, 自然晾干。

(4) 待家蚕 5 龄第三天时, 对家蚕饲喂步骤(3)的处理桑叶, 直至其吐丝结茧。

(5) 待家蚕成熟至吐丝阶段, 将蚕转移至光滑平板表面, 诱导其吐平板丝, 随后收集。

(6) 对所获得的桑蚕丝用 980nm 近红外激光照射, 平板桑蚕丝发出明亮绿色荧光(转化为灰度图, 绿色荧光部分转化为灰白色部分), 如图 2 所示, 从而得到近红外光照下发荧光桑蚕丝。

实施例 2

(1) 利用水热法制备激发红色荧光的上转换纳米颗粒(NaYF_4 : 1%Er, 1%Tm), 直径约 60nm, 进行表面聚丙烯酸修饰后接枝伴刀豆球蛋白, 作为添食原料, 合成方法如下:

采用现有的方法(*J. Phys. Chem. C, Vol. 113, No. 44, 2009*)制备红色荧光上转换纳米颗粒(NaYF_4 : 1%Er, 1%Tm), 将其分散在正己烷溶液中。采用配体交换法对纳米颗粒表面进行聚丙烯酸(PAA)接枝, 将 1 mL 上转换纳米颗粒溶液与 5mL 二甲基甲酰胺(DMF)共混, 随后再加入 4mL 正己烷, 3 小时搅拌。添加 5-10mL 异丙醇进行沉淀并用 DMF 洗涤数次。将沉淀重悬在 PAA/DMF 溶液中, PAA 浓度 10mg/mL (5-10 mL), 过夜搅拌后离心洗涤。取 10 mg PAA 修饰的纳米颗粒分散在 1mL 水溶液中, 分

别加入 EDC 和 NHS 各 1 mg, 搅拌反应 3-6 h, 随后 30 uL 伴刀豆角蛋白水溶液 (3-10 mg/mL), 搅拌过夜, 离心洗涤后可得到伴刀豆角蛋白修饰的上转换纳米颗粒;

(2) 将步骤 (1) 合成的上转换纳米颗粒用水分散, 配制成浓度为 5g/L 的分散溶液;

(3) 摘取成熟桑叶, 浸泡于步骤 (2) 的纳米颗粒溶液中, 浸泡 2min 后捞出, 自然晾干。

(4) 待家蚕 5 龄第三天时, 对家蚕饲喂步骤 (3) 的处理桑叶, 直至其吐丝结茧。

(5) 待家蚕吐丝结茧后, 取家蚕蚕茧进行缫丝处理, 获得近红外光激发发红色荧光的桑蚕丝。

实施例 3

(1) 利用水热法制备激发绿色荧光的核壳结构上转换纳米颗粒 (NaGdF₄:Yb/Er@NaGdF₄:Yb/Nd), 直径约 50nm, 进行表面聚丙烯酸修饰后接枝伴刀豆角蛋白, 作为添食原料;

(2) 将步骤 (1) 合成的上转换纳米颗粒用水分散, 配制成浓度为 5g/L 的分散溶液;

(3) 摘取成熟桑叶, 浸泡于步骤 (2) 的纳米颗粒溶液中, 浸泡 5min 后捞出, 自然晾干。

(4) 待家蚕 5 龄第三天时, 对家蚕饲喂步骤 (3) 的处理桑叶, 直至其吐丝结茧。

(5) 待家蚕吐丝结茧后, 取家蚕蚕茧进行缫丝处理, 获得近红外光激发发绿色荧光的桑蚕丝, 且荧光强度更高。

实施例 3 制备得到的桑蚕丝作为样品 1; 按照实施例 3 相同的方法, 不同之处在于, 将步骤 (2) 中的分散溶液的浓度稀释两倍, 得到样品 2; 样品 3 为普通桑叶喂食得到的桑蚕丝; 用 ICP-MS 对桑蚕丝中稀土元素含量进行定量分析, 对比普通桑蚕丝和改性桑蚕丝中上转换纳米颗粒含量, 分析比较如表 1 所示。

表 1 为实施例 3 中用 ICP-MS 测得的普通桑蚕丝和改性桑蚕丝中稀土

元素含量对比表。

序号	样品含量	Y (%)	Er (%)	Yb (%)	Na (%)
1	样品1	2.0×10^{-4}	6.5×10^{-4}	5.0×10^{-4}	6.37
2	样品2	5.1×10^{-4}	3.0×10^{-4}	1.49×10^{-3}	9.0
3	样品3	3.3×10^{-6}	7.3×10^{-6}	6.7×10^{-6}	6.8

表 1 说明了我们添食的纳米颗粒能够在最终的蚕丝中得到含量检测说明添食效率比较高。

最后，还需要注意的是，以上列举的仅是本发明的具体实施例子。显然，本发明不限于以上实施例子，还可以有许多变形。本领域的普通技术人员能从本发明公开的内容直接导出或联想到的所有变形，均应认为是本发明的保护范围。

权 利 要 求 书

1、一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：

(1) 制备上转换纳米颗粒，并用伴刀豆球蛋白进行表面修饰，获得修饰后的上转换纳米颗粒；

(2) 将步骤(1)的上转换纳米颗粒在水中均匀分散，配制成浓度为上转换纳米颗粒水溶液；

(3) 摘取成熟桑叶，将桑叶浸没于步骤(2)的纳米颗粒水溶液体系中，后捞出，将水沥净后自然晾干；

(4) 待家蚕生长至设定时间后，对家蚕饲喂步骤(3)的桑叶，直至家蚕吐丝结茧；

(5) 收集蚕丝，得到近红外光照下发荧光桑蚕丝。

2、根据权利要求1所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，所述上转换纳米颗粒为核壳结构。

3、根据权利要求1所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，所述上转换纳米颗粒包括 β -NaYF₄:Yb,Er@ β -NaYF₄上转换纳米颗粒、NaGdF₄:Yb/Er@NaGdF₄:Yb/Nd、NaYF₄:Yb/Er 或发红色荧光的上转换纳米颗粒中的一种或多种。

4、根据权利要求1所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，所述上转换纳米颗粒为聚丙烯酸修饰的核壳结构上转换纳米颗粒。

5、根据权利要求1所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，所述上转换纳米颗粒的制备方法如下：制备聚丙烯酸修饰的核壳结构上转换纳米颗粒，引入伴刀豆球蛋白，利用交联剂1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)-碳化二亚胺将伴刀豆球蛋白接枝到上转换纳米颗粒表面，形成复合共聚体。

6、根据权利要求1所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，用伴刀豆球蛋白进行表面修饰的方法如下：

采用配体交换法对上转换纳米颗粒表面进行聚丙烯酸接枝，离心获得沉淀；取 10 mg 聚丙烯酸修饰的纳米颗粒分散在 1mL 水溶液中，分别加入 EDC 和 NHS 各 1 mg，搅拌反应 3-6 h，随后加入 30 μ L 伴刀豆球蛋白水溶液，该伴刀豆球蛋白水溶液的浓度为 3-10 mg/mL，搅拌过夜，离心洗涤后可得到伴刀豆球蛋白修饰的上转换纳米颗粒。

7、根据权利要求 1 所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，所述上转换纳米颗粒水溶液的浓度为 1~5g/L。

8、根据权利要求 1 所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，待家蚕生长至五龄第三天时，对家蚕饲喂步骤（3）的桑叶。

9、根据权利要求 1 所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，步骤（1）得到的修饰后的上转换纳米颗粒的平均直径为 50~100nm。

10、根据权利要求 1 所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，步骤（3）中，桑叶浸没时间为 2~5min。

11、根据权利要求 1 所述的在近红外光照下发荧光桑蚕丝的制备方法，其特征在于，步骤（5）中，采用诱导家蚕平板吐丝收集蚕丝。

12、一种在近红外光照下发荧光桑蚕丝，其特征在于，由权利要求 1~11 任一所述的方法制备得到。

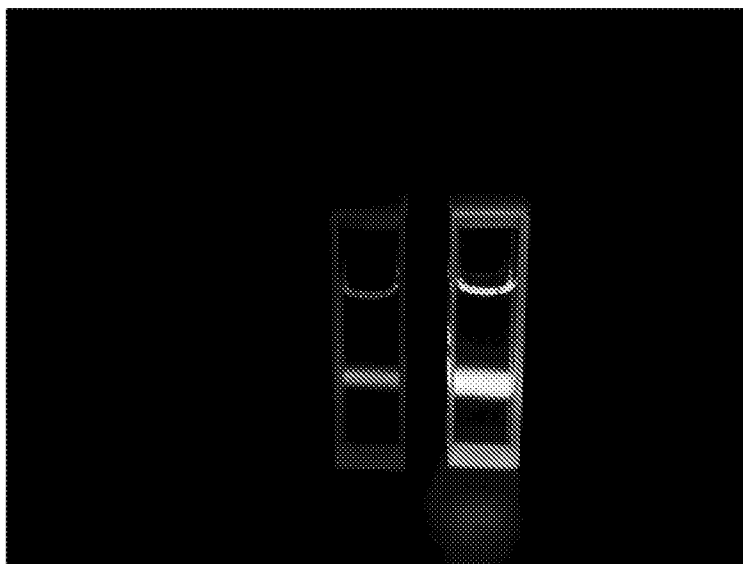


图 1

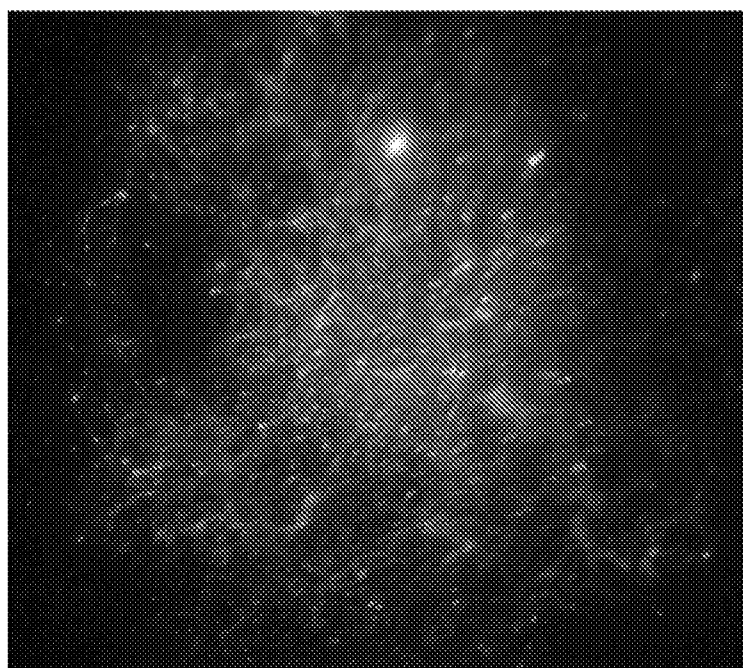


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/097679

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01K 67/04(2006.01)i; A23K 50/90(2016.01)i; C09K 11/02(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01K, A23K, C09K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNTXT; CNKI: 蚕丝, 荧光, 刀豆球蛋白, 刀豆蛋白, 纳米, 修饰, 桑叶, 喂食, 添食; VEN; USTXT; JPTXT; EPTXT; WOTXT: silk, fluorescen+, cona, cannvalia, concanavalin, nanoparticle, nano particle, nano-particle, decorat+, mulberry leaf, folium mori, feed+, food

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 110367209 A (ZHEJIANG UNIVERSITY) 25 October 2019 (2019-10-25) description, paragraphs 5-26	1-12
A	CN 102677182 A (DONGHUA UNIVERSITY) 19 September 2012 (2012-09-19) description, paragraph 32	1-12
A	CN 109588375 A (DALIAN POLYTECHNIC UNIVERSITY) 09 April 2019 (2019-04-09) entire document	1-12
A	CN 107446581 A (ZHAO, Bing) 08 December 2017 (2017-12-08) entire document	1-12
A	CN 107558187 A (ZHAO, Bing) 09 January 2018 (2018-01-09) entire document	1-12
A	KR 20090046616 A (INHA-INDUSTRY PARTNERSHIP INSTITUTE) 11 May 2009 (2009-05-11) entire document	1-12
A	JP 2003088274 A (NAT INST OF AGROBIO SCIENCES et al.) 25 March 2003 (2003-03-25) entire document	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 August 2020

Date of mailing of the international search report

21 September 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/097679

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110367209	A	25 October 2019	CN	110367209	B	23 June 2020
CN	102677182	A	19 September 2012	None			
CN	109588375	A	09 April 2019	None			
CN	107446581	A	08 December 2017	None			
CN	107558187	A	09 January 2018	None			
KR	20090046616	A	11 May 2009	KR	100956276	B1	10 May 2010
JP	2003088274	A	25 March 2003	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/097679

A. 主题的分类

A01K 67/04 (2006.01) i; A23K 50/90 (2016.01) i; C09K 11/02 (2006.01) i

按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号)

A01K, A23K, C09K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))

CNABS; CNTXT; CNKI: 蚕丝, 荧光, 刀豆球蛋白, 刀豆蛋白, 纳米, 修饰, 桑叶, 喂食, 添食; VEN; USTXT; JPTXT; EPTXT; WOTXT: silk, fluorescen+, cona, cannvalia, concanavalin, nanoparticle, nano particle, nano-particle, decorat+, mulberry leaf, folium mori, feed+, food

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 110367209 A (浙江大学) 2019年 10月 25日 (2019 - 10 - 25) 说明书第5-26段	1-12
A	CN 102677182 A (东华大学) 2012年 9月 19日 (2012 - 09 - 19) 说明书第32段	1-12
A	CN 109588375 A (大连工业大学) 2019年 4月 9日 (2019 - 04 - 09) 全文	1-12
A	CN 107446581 A (赵兵) 2017年 12月 8日 (2017 - 12 - 08) 全文	1-12
A	CN 107558187 A (赵兵) 2018年 1月 9日 (2018 - 01 - 09) 全文	1-12
A	KR 20090046616 A (INHA IND PARTNERSHIP INST) 2009年 5月 11日 (2009 - 05 - 11) 全文	1-12
A	JP 2003088274 A (NAT INST OF AGROBIO SCIENCES等) 2003年 3月 25日 (2003 - 03 - 25) 全文	1-12

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2020年 8月 18日

国际检索报告邮寄日期

2020年 9月 21日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局 (ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

张团委

电话号码 86-(20)-28950713

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/097679

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	110367209	A	2019年 10月 25日	CN 110367209 B	2020年 6月 23日
CN	102677182	A	2012年 9月 19日	无	
CN	109588375	A	2019年 4月 9日	无	
CN	107446581	A	2017年 12月 8日	无	
CN	107558187	A	2018年 1月 9日	无	
KR	20090046616	A	2009年 5月 11日	KR 100956276 B1	2010年 5月 10日
JP	2003088274	A	2003年 3月 25日	无	